FACULTE DE MEDECINE SAINT-ANTOINE PARIS

ANNÉE 1972 THÈSE N° 88

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Pierre, René, Marcel ROSIER
Ancien Externe des Hôpitaux de Paris
Né le 30 mars 1940, à Pontoise (95)

Présentée et soutenue publiquement le 1972

Etude spectrophotométrique de la bilirubine amniotique au cours du dernier mois de la grossesse

Sa signification chez les femmes normales et chez les femmes immunisées au facteur rhésus

Président : M. R. MERGER, Professeur

PARIS — 1972

FACULTE DE MEDECINE SAINT-ANTOINE PARIS

ANNÉE 1972 **THÈSE** N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Pierre, René, Marcel ROSIER
Ancien Externe des Hôpitaux de Paris
Né le 30 mars 1940, à Pontoise (95)

Présentée et soutenue publiquement le 197

Etude spectrophotométrique de la bilirubine amniotique au cours du dernier mois de la grossesse

Sa signification chez les femmes normales et chez les femmes immunisées au facteur rhésus

Président : M. R. MERGER, Professeur

PARIS — 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE PARIS VI

F A C U L T E   D E   M E D E C I N E   S A I N T - A N T O I N

-:-:-:-:-:-

Professeurs titulaires
-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	ANDRE R.	Hématologie
	BRISSAUD H.	Pédiatrie
	BROCARD R.	Médecine
	CAROLI J.	Médecine
	CATINAT J.	Cardiologie
	CERBONNET G.	Chirurgie
	CHERIGIE Ed.	Radiologie
	CHIGOT P.L.	Chirurgie infantile
	CONTAMIN Fr.	Neurologie
	CONTE M.	Médecine
	DAGUET L.	Bactériologie
	DEBRAY J.	Médecine
	FLABEAU F.	Chirurgie
	GERBEAUX J.	Thérapeutique
	GOSSET J.	Chirurgie
MM.	HUGELIN A.	Physiologie
	LAPLANE R.	Pédiatrie
	LE LORIER G.	Obstétrique
	LOEPER J.	Médecine expérimentale - Immunolog
	LOYGUE J.	Chirurgie
	MAROIS M.	Histologie
	MERGER R.	Obstétrique
	MILHAUD G.	Biophysique
	NICK J.	Neurologie
	ORCEL L.	Anat. patholog.
	PERRAULT M.	Médecine
	POLONOVSKI Cl.	Pédiatrie
	POLONOVSKI J.	Biochimie
	RICHET G.	Néphrologie
	WOLFROMM R.	Médecine

Professeurs sans chaire
-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	BRICOUT F.	Bactério-Virologie
	CHALUT	Radiologie
Mme	CHAPUT A.	Stomatologie
MM.	DUHAMEL G.	Hématologie
	GIRARD F.	Physiologie
MM.	GOLVAN Y.J.	Parasitologie
	LESTRADET H.	Pédiatrie
	PICARD J.	Biochimie
	ROUX Ch.	Embryologie
	PIERON R.	Pneumo-Phtisio

Maîtres de Conférences

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	AKOUN G.	Médecine
	ARDAILLOU R.	Physiologie
	BAUX S.	Chirurgie
	BOURY G.	Chirurgie
	CHEYMOL G.	Pharmacologie
	CHOUARD Cl.	O.R.L.
	CLOAREC M.	Médecine
Mme	COMBRISSON A.	Hématologie
MM.	COSCAS G.	Ophtalmologie
	DAUTRY P.	Chirurgie
	DECROIX G.	Pneumo-Phtisio.
	DELIGNE P.	Anesthésiologie
	DOYON D.	Radiologie
	DRY J.	Médecine
	FOUET P.	Thérapeutique
	GAUTIER H.	Physiologie
	GRUNER M.	Chirurgie infantile
	GUILMET Cl.	Anesthésiologie
	GUIRAUDON G.	Anatomie
	HERMAN D.	Médecine
	HUGUET Cl.	Chirurgie
	HUGUIER M.	Chirurgie
MM.	LASFARGUES G.	Pédiatrie
	LAUGIER A.	Radiologie
	LEVY V.G.	Médecine
	MALAFOSSE M.	Chirurgie
	MENSCH B.	Biophysique
	MERY J. Ph.	Néphrologie
Mme	MIGNON Fr.	Néphrologie
MM.	OPOLON J.	Médecine
	PAQUELIN Fr.	O.R.L.
	PISSARRO B.	Médecine préventive
	POULET J.	Médecine
	RAMBINI Cl.	Biochimie
	RICHARDET J.M.	Pédiatrie
	ROLAND J.	Anatomie pathologique
	SALAT J.	Obstétrique
	SALMON Ch.	Hématologie
	SANTARELLI J.	Obstétrique
	WARGON H.	Médecine expérimentale
	WEINMANN S.	Biochimie

Enseignants Associés

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Professeur Associé	MM.	BLOCH-MICHEL H.	Rhumatologie
M. C. A. Associé		ELIAKIS Em.	Médecine légale

Enseignants Contractuels

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

M. C. A. M. KIRSCH F. Physiologie biochimique

Chargés d'Enseignement

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	BENOIST	Rhumatologie		
	BRUEZIERE	Chirurgie infantile		
	CRISTOL	Cardiologie		
MM.	DUNET	Endocrinologie		
	LOFFREDO	Obstétrique		
	SALOMON	Rhumatologie		

Attachés d'Enseignement

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	CASASSUS	Cardiologie
	COUVREUR	Thérapeutique
	DESLAURIERS	Neurologie
	GALLOUEDEC	Pneumologie
MM.	HIVET	Chirurgie
	MIGNOT	Neurologie
	SAUVAN	Cardiologie
	VANNIER	Pneumologie

A MA MERE (1916-1972)

A MON PERE

A MON FRERE, A MA SOEUR

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. MERGER

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

Gynécologue-Accoucheur des Hôpitaux

Chef du Service de Gynécologie-Obstétrique de l'Hôpital Saint-Antoine

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse et auprès duquel nous avons toujours trouvé de la bienveillance. Que ce travail soit le témoignage de notre admiration et de notre profonde reconnaissance.

En hommage respectueux.

A MON MAITRE, MONSIEUR J. SANTARELLI

Professeur Agrégé au C.H.U. de SAINT ANTOINE

Nous lui devons nos connaissances et notre pratique obstétricales. Il nous a fait bénéficier quotidiennement de son enseignement et de son expérience. Son aide et ses conseils nous ont permis de mener à bien ce travail.

En toute circonstance nous avons trouvé auprès de lui un soutien amical.

Nous lui exprimons ici notre profonde gratitude et l'assurons de notre respectueux attachement.

AU DOCTEUR J. BAUDELOT

Hémobiologiste du Cadre Hospitalier Temporaire

Son amitié m'a permis d'entreprendre et de mener à terme ce travail.

AU DOCTEUR Cl. DUVAL

Professeur Agrégé au C.H.U. de ROUEN

Qu'il trouve ici le témoignage de mon amitié reconnaissante.

AU DOCTEUR F. PINON

Hémobiologiste du Cadre Hospitalier Temporaire
Chef de Service à la Maladie Hémolytique du Nouveau-Né
(Centre Départemental de Transfusion - Hôpital Saint Antoine)

AUX DOCTEURS

HUCHET
CREGUT
MAIGRET
SENDER
MAYNIER

A MES COLLEGUES
Dr BROSSARD
Dr BRIFFOTEAUX
GIRARD
SOULIE
DOYER
TRILLON

Pour leur amitié et leur esprit d'équipe

Aux Equipières - Laborantines - Secrétaires de la M.H.N.N.

Qui ont fait d'une activité partielle, une joie permanente.

A l'Equipe de la Prévention.

Aux Sages-Femmes de la Maternité de l'Hôpital Saint-Antoine

En hommage à leur dévouement et en
témoignage d'une sincère et tendre amitié.

P L A N

- INTRODUCTION

I - RAPPEL DE LA PHYSIOLOGIE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

- A) Aspect et rôle
- B) Volume
- C) Origine
- D) Circulation et résorption
- E) Composition biochimique
- F) Rappel de la physiologie de la bilirubine du liquide amniotique

II - CONDITIONS DE RECUEIL DU LIQUIDE AMNIOTIQUE - METHODES DE DOSAGE DE LA BILIRUBINE

- A) Liquides recueillis
- B) Technique de l'amniocentèse
  - incidents
  - accidents
- C) Examen du liquide : courbes spectrophotométriques

III - RESULTATS

- A) Grossesses normales
- B) La disparition de la bilirubine : test de maturité foetale
- C) Grossesses rhésus. Signification pronostique.

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

I N T R O D U C T I O N

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

La découverte, puis l'utilisation de plus en plus fréquente :

- de l'amnioscopie et son application à la souffrance foetale (SALING)
- de l'amniocentèse (MENEES 1930; DIECKAM et DAVIS 1933) et la vulgarisation de cette méthode par BEVIS et surtout LILEY dans l'immunisation au facteur Rhésus, ont renouvelé l'intérêt du liquide amniotique et permis de compléter l'étude de ses constituants cytologiques et biochimiques : bilirubine - méconium - oxyhémoglobine - créatinine - lécithine - sphingomyéline.

Il nous a paru intéressant d'étudier un pigment particulier : la bilirubine, dans le dernier mois de la grossesse :

- d'une part pour essayer de mieux préciser sa physiologie pendant cette période puisque certains ont fait de sa disparition un test de maturité foetale.
- d'autre part pour mieux étudier sa valeur pronostique dans l'immunisation Rhésus puisque sa signification est encore mal précisée après le 8ème mois (36ème semaine).

Avant l'utilisation de la bilirubinamnie, les antécédents obstétricaux et les taux d'anticorps maternels ne permettaient pas toujours de préciser avec exactitude le degré de l'atteinte foetale. Ainsi, des enfants gravement atteints mouraient in-utéro et, à l'inverse, l'interruption de la grossesse avant terme donnait parfois naissance à des enfants rhésus négatifs ou peu atteints.

I - RAPPEL DE LA PHYSIOLOGIE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

-:-

A) Aspect et rôle

Le liquide amniotique remplit la cavité de l'amnios dans laquelle baigne le foetus.

Il a un aspect clair et transparent pendant la plus grande partie de la grossesse jusqu'au voisinage du terme, où la réduction du liquide et la concentration du vernix caseosa lui donnent un aspect plus ou moins lactescent. Il dégage une odeur fade.

Il possède un triple rôle :

1) Nutritif

. Au début de la grossesse, le liquide amniotique est le liquide nourricier de l'embryon.

. Avant que le placenta ne soit pleinement fonctionnel, les échanges nutritifs se font par l'intermédiaire du liquide amniotique.

. Ensuite le liquide joue un rôle important dans l'hydratation du foetus. Il apporte des acides aminés et des protéines indispensables à sa croissance.

2) Mécanique

Le liquide amniotique :

- facilite les évolutions et les déplacements du foetus.
- permet l'accomodation de la présentation foetale.
- Pendant l'accouchement, il conserve le même rôle (41) et de plus, après rupture des membranes, il semble avoir des propriétés lubrifiantes.

3) Protecteur

Il protège le foetus contre les traumatismes extérieurs.

- La membrane amniotique constitue une cavité close protégeant le foetus contre l'infection. Par contre, l'adjonction de 1 % de méconium diminue le pouvoir bactériostatique du liquide amniotique. Dans ce cas, certains auteurs ont pu obtenir des cultures d'Escherichia coli et de staphylocoques en 6 heures (4). C'est dire tont l'intérêt d'une asepsie très rigoureuse lors de l'amniocentèse.

B) Volume

Calculé grâce à la technique de dilution, le volume du liquide amniotique varie en fonction de l'âge de la grossesse.

De la 10ème à la 14ème semaine, il est de 250 cc environ. De la 14ème à la 18ème semaine, il est de 250-280 cc. Il atteint un volume de près d'1 litre à la 38ème semaine. Il se résorbe ensuite pour atteindre 800 cc au moment du terme (19-20). Au delà il peut encore diminuer comme c'est le cas dans les grossesses prolongées.

C) Origine

Elle n'est pas la même durant toute la gestation.

1) Au début

Le liquide amniotique apparait vers le 7ème jour après la fécondation, c'est à dire au moment où la cavité amniotique se forme dans le bouton embryonnaire. Cette cavité amniotique augmente aux dépens du coelome.

Puis, jusqu'à l'établissement de la circulation placentaire (28ème - 30ème jour), il s'y ajoute un liquide d'osmose constitué par dialyse à travers les membranes.

2) Ensuite

3 hypothèses sont possibles, comme le proposait HANNON en 1955 (26).

a) Origine amniotique

Le liquide amniotique est secrété par l'amnios. Cette hypothèse parait logique car les cellules qui bordent la cavité amniotique possèdent des caractères sécrétoires comme l'a confirmé la microscopie électronique. Certains lipides du liquide amniotique qui entrent dans la composition du vernix caséosa sont excrétés par des vacuoles contenues dans les cellules de l'épithélium amniotique.

Une fonction secrétoire de l'amnios est indubitable. C'est semble-t-il, l'origine la plus importante du liquide amniotique (transsudat en exsudat) pour beaucoup d'auteurs (28, 37, 46).

Cependant, pour HANNON, cette sécrétion semble insuffisante pour expliquer le renouvellement très rapide du liquide amniotique.

b) Origine maternelle

Cette théorie est basée sur plusieurs arguments :

- l'étude du passage dans le liquide amniotique de substances injectées à la mère : Rouge Congo - Bleu Evans - substances radioactives... HANNON et BAZIN estiment à 90 % cette source maternelle en étudiant le passage d'iode, de mannitol (23).
- la composition du liquide amniotique au début de la gestation : il est isotonique au plasma maternel.
- les propriétés physiques de filtration de la membrane amniotique : l'ultrastructure histologique de l'amnios a mis en évidence des voies de communication (pertuis) larges entre la cavité amniotique et le placenta ou l'utérus. Mais cette perméabilité diminue après la 20ème semaine.

Tout cela confirme l'origine maternelle du liquide amniotique et les phénomènes de transsudation.

c) Origine foetale

Il existerait différentes sources :
- cutanée,
- pulmonaire,
- funiculaire,
- rénale.

1) La peau

Plusieurs arguments sont à retenir :
- un argument embryologique :
  . l'amnios et la peau dérivent du même feuillet primitif : l'ectoderme. Au début ce sont eux seuls qui secrètent le liquide amniotique.
- un argument histologique :
  . l'étude au microscope électronique a montré des cellules à caractères secrétoires. Cette voie possible disparait entre la 20ème et la 28ème semaine car la peau perd alors son caractère secrétoire et commence à se couvrir de vernix.

2) Sécrétions trachéo-bronchiques

C'est une voie importante pour certains auteurs (10 - 23 - 43 - 55). Des faits expérimentaux ont prouvé la présence d'une sécrétion d'un liquide produit par l'appareil pulmonaire. POLICARD, en ligaturant la trachée d'un lapin in utéro, a ainsi obtenu des distensions très importantes de l'arbre trachéo-bronchique dues à la production importante de liquide.

L'étude biochimique du liquide recueilli a montré l'origine pulmonaire de certaines substances comme :

- la lécithine constituant la majorité des phospholipides du liquide amniotique et qui est, à terme, l'élément principal du surfactant pulmonaire et un facteur de maturité foetale.

- la bilirubine qui s'y trouve en grande quantité.

L'étude physique des mouvements du liquide contenu dans l'arbre trachéo-bronchique a montré qu'il existait un gradient de pression positif dans la trachée par rapport à la cavité buccale empêchant tout reflux du liquide amniotique dans l'arbre trachéo-bronchique (23).

Transsudation et ultra-filtration à travers le lit pulmonaire sont à l'origine du liquide amniotique mais seulement à partir de la 20ème semaine, date à laquelle le poumon devient fonctionnel histologiquement.

Pour d'autres auteurs, le rôle des sécrétions trachéo-bronchiques est peu important dans l'origine du liquide amniotique.

3) <u>Filtration au niveau du cordon ombilical</u>

La possibilité d'échanges à ce niveau a été démontrée. En particulier, du tritium injecté dans les vaisseaux du cordon se retrouve dans le liquide amniotique (14 - 45).

4) <u>Le rein</u>

C'est la première source qui fut envisagée. Pour Hippocrate le liquide amniotique était de l'urine foetale.

En faveur de cette hypothèse plaident :

. a) l'apparition d'une fonction rénale entre la 9ème et la 20ème semaine.

. b) BROWN fait remarquer que la composition du liquide amniotique subit des modifications progressives au cours de la grossesse (11).

L'urine foetale est hypotonique. Or le liquide amniotique devient de plus en plus hypotonique. Certains produits du métabolisme rénal foetal augmentent relativement comme l'urée - l'acide urique - la créatinine.

. c) la coexistence très fréquente de malformations urinaires et d'un oligo-amnios (30).

. d) l'expérience de BEHRMAN.
  - si l'on retire le foetus de la cavité amniotique, le liquide reprend ses caractéristiques de début de grossesse.

. e) l'injection expérimentale, dans les vaisseaux du cordon ombilical d'un singe, d'un produit marqué comme le Diodrast I131. Le produit, éliminé par le rein, est rapidement retrouvé dans le liquide amniotique. Si le foetus est mort, le passage ne se fait pas (7).

. f) la ponction accidentelle de la vessie lors de transfusion in-utéro qui a révélé la présence d'urine.

Tous ces arguments sont donc en faveur d'une sécrétion urinaire et d'un passage dans le liquide amniotique.

A l'inverse :

. 1) il y a du liquide amniotique même lorsqu'il existe une imperforation du méat de la verge.

. 2) l'agénésie rénale ne s'accompagne pas toujours d'un oligo-amnios.

. 3) l'injection, à des foetus néphrectomisés in-utéro, de substances radioactives électivement secrétées par les urines, a montré que le taux de radioactivité du liquide amniotique est le même que si les reins étaient en place (8).

En conclusion :

De ces différentes hypothèses, il semble que l'origine de la sécrétion du liquide amniotique soit triple :

- amniotique,
- maternelle,
- foetale.

La quantité de liquide amniotique fournie par chacune de ces sources est difficile à chiffrer. Il semblerait cependant que l'origine amniotique soit la plus importante.

D) Circulation et résorption

a) Circulation

FLEXTER et VOSBURG ont démontré en 1945 qu'en fin de grossesse, l'eau du liquide amniotique était entièrement renouvelée en 2h.54'. La vitesse de renouvellement du liquide amniotique peut donc être évaluée à 250 cc/h environ. Cette vitesse de renouvellement n'est pas identique tout au long de la grossesse.

b) Résorption

Plusieurs voies de résorption ont été décrites.

1) foetale

- par les vaisseaux placentaires.
- par le cordon.

Des expériences rigoureuses ont montré le passage de substances radio-actives entre le liquide amniotique et la circulation funiculaire (25 - 35).

- par la voie digestive

Le foetus déglutit en effet du liquide amniotique.

Cette déglutition est démontrée par :

- la présence de cellules épithéliales et de lanugo dans les voies digestives foetales (47).
- l'association fréquente d'une atrésie de l'oesophage et d'un hydramnios.
- l'amniographie qui opacifie en quelques heures le tube digestif du foetus. On a pu calculer que le foetus déglutissait 500 cc/24h en moyenne en fin de grossesse (17 - 56).

2) Amniotique

L'épithélium amniotique peut résorber le liquide. Cette voie existe car, même lorsque le foetus est mort, il persiste une circulation amniotique, donc un passage à travers l'amnios (37).

E) Composition biochimique

Des composants biochimiques du liquide amniotique, nous avons surtout retenu la bilirubine et c'est un résumé de sa physiologie que nous allons envisager.

F) Rappel de la physiologie de la bilirubine du liquide amniotique

a) Métabolisme général de la bilirubine

La bilirubine est le produit final du catabolisme de l'hème dont la source essentielle est l'hémoglobine circulante. Les globules rouges vieillis sont retirés de la circulation et détruits dans le système réticulo-endothélial où l'hémoglobine est catabolisée et transformée en biliverdine puis en bilirubine (22 - 34). Cette bilirubine est remise en circulation. Elle est alors transportée dans le plasma en étant fortement liée à l'albumine. Malgré cette liaison solide, l'hépatocyte possède un pouvoir sélectif et efficace de soustraction de la bilirubine non conjuguée à partir du plasma (7 - 15 - 22). La bilirubine est alors transportée au niveau des membranes du réticulum endoplasmique des hépatocytes pour y être conjuguée. On connait peu de choses de ce mécanisme.

La conjugaison de la bilirubine en glucuronide de bilirubine est considérée comme indispensable à l'excrétion de la bilirubine (3 - 53). Elle est catalysée par un système enzymatique : la glycuronide-transférase et elle aboutit surtout à la formation de mono et de diglycuronides mais aussi à d'autres conjugués tels que les sulfates (2 - 4 - 24 - 54).

Une fois conjuguée, la bilirubine est rapidement excrétée par la cellule hépatique. Elle est éliminée par la bile et, en cas d'excès, par le rein. La bilirubine conjuguée n'est pas réabsorbée par l'intestin (32 - 33).

. Chez l'adulte la bilirubine conjuguée est en majeure partie réduite à l'état d'urobiline par les bactéries intestinales (58) et la circulation entéro-hépatique de la bilirubine est minime (32).

. Chez le nouveau-né, la circulation entéro-hépatique peut n'être pas négligeable.

Si la physiologie de la bilirubine du nouveau-né est assez connue par contre, le métabolisme de la bilirubine chez le foetus présente encore beaucoup de points non élucidés.

b) Métabolisme de la bilirubine chez le foetus

- Origine

La durée de vie des hématies, le mécanisme de l'hémolyse et le métabolisme de la bilirubine chez le foetus sont assez mal connus. Certains auteurs ont étudié ce problème.

Il existe une production physiologique de bilirubine pendant la vie intra-utérine. En témoignent le taux de bilirubine plus élevé dans le sang du cordon que dans le sang maternel et l'existence de quantité dosable dans le liquide amniotique aussi bien chimiquement que spectrophotométriquement.

La bilirubine n'est pas le seul pigment dosable. Entre 365 et 650 nm, il existe dans le liquide amniotique un mélange de pigments biliaires dérivés de l'hémoglobine : HERON en a isolé 7 (27). Le plus important de ces pigments est la bilirubine non conjuguée, insoluble en solution aqueuse. Le maximum de son spectre d'absorption se situe à 450 nm sur les courbes spectrophotométriques.

Une fois conjuguée, la bilirubine est excrétée au pôle biliaire de la cellule hépatique. Elle est éliminée par la bile et, à un degré moindre, par le rein. La bilirubine conjuguée n'est pas réabsorbée par l'intestin (32 – 35).

. Dans l'intestin, la bilirubine conjuguée est en majeure partie réduite à l'état d'urobiline par les bactéries intestinales (57) et la circulation entéro-hépatique de la bilirubine est minime (57).

. Chez le nouveau-né, la circulation entéro-hépatique peut n'être que négligeable.

Si le [illegible], la bilirubine du nouveau-né est connue par contre, le métabolisme de la bilirubine chez le [illegible] précédent [illegible] encore [illegible] points [illegible].

c) Métabolisme de la bilirubine chez le foetus

– Origine

La durée de vie [illegible], le mécanisme de l'hémolyse et le métabolisme de la bilirubine chez le foetus sont assez mal connus. Certains auteurs ont abordé ce problème.

Il existe une production physiologique de bilirubine pendant la vie intra-utérine. En témoignent le taux de bilirubine plus élevé dans le sang du cordon que dans le sang maternel et l'existence de quantités décelables dans le liquide amniotique aussi bien chimiquement que spectrophotométriquement.

La bilirubine [illegible] et decelable. Entre 365 et 550 nm, il existe [illegible] un mélange de pigments biliaires dérivés de l'hémoglobine : BEVIS en a isolé 7 (27). Le plus important de ces pigments est la bilirubine non conjuguée. [illegible] le maximum [illegible] spectre [illegible] 450 nm [illegible] courbe spectrophotométrique.

On ne sait pas comment la bilirubine non conjuguée parvient dans le liquide amniotique.

On a suggéré les origines suivantes :

- les sécrétions trachéo-bronchiques (23).
- excrétion par l'intermédiaire de la muqueuse du tractus digestif supérieur (57).
- urine foetale - méconium (38).
- la diffusion à travers le cordon ombilical et la peau foetale (15).
- transfert à partir de la circulation maternelle (51).

L'apport par l'urine semble difficile à admettre car ceci impliquerait que le rein du foetus soit capable d'éliminer la bilirubine non conjuguée (13).

. <u>Excrétion</u>

Comme nous l'avons vu précédemment, la circulation du liquide amniotique emprunte la voie digestive; l'eau et peut-être d'autres éléments/passent dans l'intestin puis dans la circulation foetale et enfin s'éliminent par voie placentaire ou rénale. Dans certains états pathologiques comme l'atrésie de l'oesophage, la circulation normale est interrompue. Le fait que l'on trouve dans ces cas (13 - 16 - 36) des concentrations élevées de bilirubine dans le liquide amniotique suggère que l'un des mécanismes d'excrétion de la bilirubine chez le foetus normal est la réabsorption intestinale à partir du liquide amniotique dégluti, la bilirubine étant ensuite éliminée par voie transplacentaire.

. <u>La fonction hépatique et l'élimination transplacentaire de la bilirubine chez le foetus</u>

Le foie foetal est très immature dans sa fonction d'épuration par glycuro-conjugaison de la bilirubine plasmatique (49 - 51). Quel que soit le taux de bilirubine dans le cordon, les enfants ne naissent pas jaunes.

Après la naissance se produit une augmentation immédiate du taux sanguin de la bilirubine non conjuguée, augmentation qui peut être extrêmement rapide au cours de la maladie hémolytique, par incompatibilité Rhésus ou ABO.

Cela suggère que le placenta joue un rôle primordial dans l'excrétion de la bilirubine par le foetus. Des études récentes (176) ont confirmé qu'il existe une élimination notable, par le placenta du singe, de bilirubine non conjuguée.

Le pouvoir du foie foetal des primates de conjuguer et d'excréter la bilirubine est très réduit (49 - 51) alors que chez le chien, le foie foetal est de ce point de vue assez mature (49). Ces différences d'espèces ont leur manifestation à la naissance puisque seuls les singes, comme le nouveau-né, font un ictère physiologique. "L'immaturité" du foie foetal des primates est un avantage car pratiquement, toute la bilirubine reste sous forme non conjuguée et est rapidement éliminée dans la circulation maternelle par voie transplacentaire. BROWN (12) plutôt que de parler "d'immaturité hépatique" constate au contraire une adaptation assez parfaite du foetus à la vie in utéro. C'est à la période néo-natale immédiate que les problèmes se posent quand le foie foetal doit s'adapter rapidement à la vie extra utérine et faire face tout seul à la production de bilirubine.

SCHENKER et SCHMID (50) ont émis l'hypothèse d'une apparition d'une fonction de glycuro-conjugaison du foie foetal au voisinage du terme. Leur hypothèse expliquerait l'extinction de la bilirubinamnie au cours du dernier mois et justifierait son choix comme facteur de maturité hépatique.

. Extinction

La bilirubine disparait normalement du liquide amniotique lors du dernier mois de la grossesse.

- MANDELBAUM et coll. (39) ont fait des amniocentèses répétées de la 27ème à la 40ème semaine chez 60 femmes dont la grossesse évoluait normalement. De plus, 40 échantillons de liquide amniotique normaux furent recueillis à l'occasion d'un accouchement et examinés.

- De même BARTSCH (5) étudia 114 liquides prélevés entre la 14ème et la 42ème semaine.

Ses conclusions rejoignent celles de MANDELBAUM à savoir que :

- l'indice optique du liquide amniotique augmente au début de la grossesse pour atteindre son maximum : 0,100 à la 20ème semaine.
- dans la 2ème moitié de la grossesse, l'indice optique diminue et s'abaisse au dessous de 0,010 après la 38ème semaine.
- à la 40ème semaine, c'est à dire près du terme, l'indice optique est à 0,002, donc pratiquement nul.

(voir Courbe page 15)

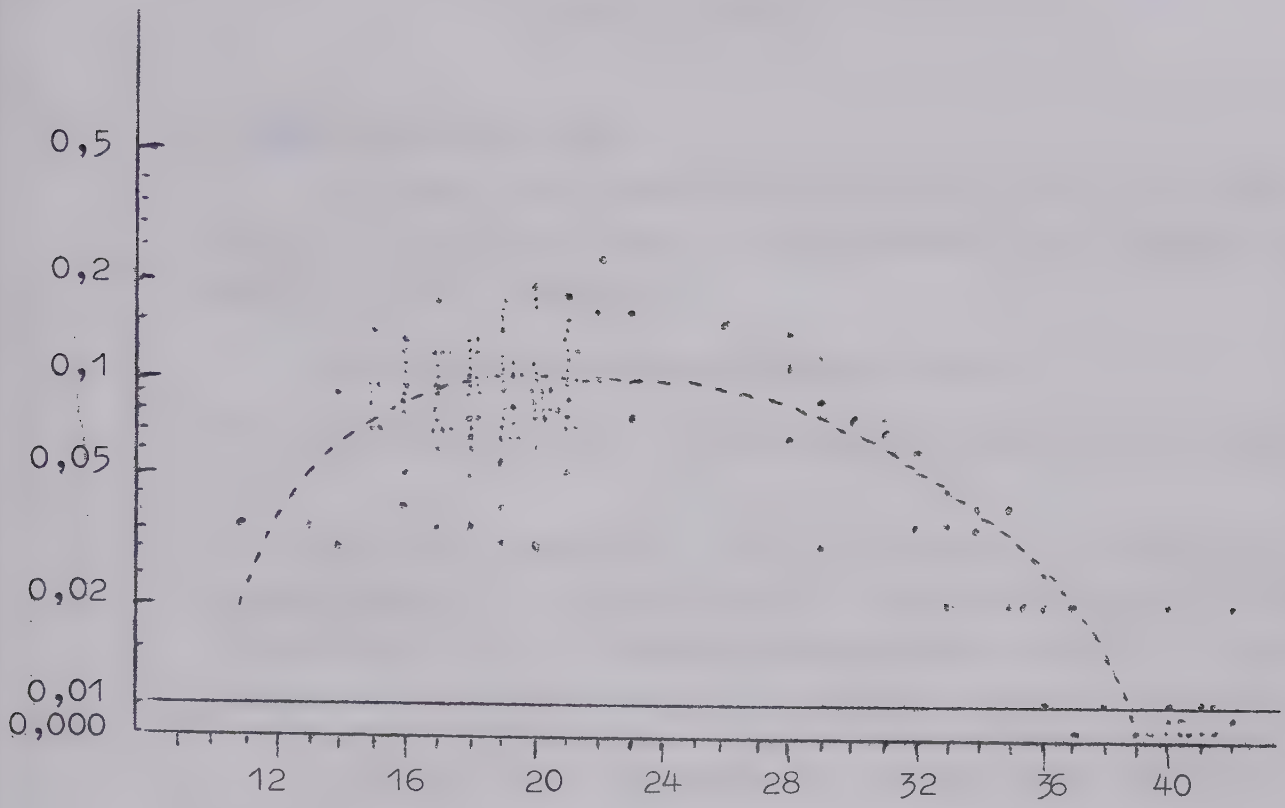
Cette disparition de la bilirubine dans le dernier mois de la grossesse est normale et certains auteurs en font un test de maturité foetale. Le but de notre travail a été de vérifier :

1 - La disparition de la bilirubine amniotique dans le dernier mois de la grossesse normale.

2 - Sa valeur comme test de maturité foetale.

3 - La signification pronostique du liquide amniotique après la 36ème semaine chez les femmes immunisées en facteur rhésus.

Indice optique à 450 nm



Terme en semaines

d'après BARTSCH

II - CONDITIONS DE RECUEIL DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

-:-

METHODES DE DOSAGE DE LA BILIRUBINE

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

A) Liquides recueillis

En 3 ans nous avons prélevé 252 liquides chez 196 femmes suivies à la consultation de la Maternité de l'Hôpital St Antoine (Service du Pr. MERGER).

Les liquides se répartissent ainsi :

- 134 liquides obtenus chez 89 femmes immunisées au facteur rhésus.
- 118 liquides recueillis chez 107 femmes en l'absence de toute immunisation foeto-maternelle et chez lesquelles un antécédent obstétrical ou un élément pathologique justifiait l'amniocentèse.

Les liquides ont permis de préciser les variations physiologiques du taux de la bilirubine amniotique dans le dernier mois de la grossesse. Les taux ont servi de référence.

Le grand nombre de femmes immunisées au facteur rhésus suivies à la Maternité de l'Hôpital Saint Antoine s'explique :

- par l'orientation particulière de ce service dans les grossesses pathologiques.
- la collaboration étroite de la maternité et du Service de la Maladie Hémolytique du Nouveau-Né (Pr. ANDRE - Dr. PINON).

B) L'Amniocentèse

Tous ces liquides ont été recueillis par amniocentèse trans-abdominale.

1) Technique

Nous ne détaillerons pas longuement les modalités techniques de l'amniocentèse. Depuis BEVIS (9) et LILEY (35), plusieurs mises au point ont été faites : KOVACS (31), RAVINA (48).

Habituellement, ces amniocentèses sont faites chez des femmes hospitalisées. Lorsque l'amniocentèse est faite à titre ambulatoire, les femmes sont placées sous surveillance une demi-journée. On note ainsi :

- la souplesse de l'utérus,
- l'absence d'écoulement de liquide amniotique,
- et on ausculte les bruits du coeur foetaux.

Ces précautions se justifient car un certain nombre de complications ont pu être imputées à l'amniocentèse.

Avant la ponction amniotique, l'examen obstétrical de la femme précise :

. la présentation et sa situation au détroit supérieur :
  - haute et mobile,
  - ou, au contraire, appliquée ,
  - parfois, engagée dans l'excavation.

. l'abondance du liquide amniotique,
. la qualité des BDC foetaux,
. l'état du col et du segment inférieur : mince ou épais.

Très habituellement cet examen clinique rend possible l'amniocentèse.; lorsque les conditions paraissent difficiles :

- obésité importante,
- présentation mal centrée,
- doute sur la situation du placenta,

un contenu utérin et une localisation isotopique du placenta sont demandés.

2) Lieu de ponction

Nous réalisons cette ponction au ras de la symphyse pubienne dans des conditions qui seront précisées au paragraphe suivant. C'est la technique la plus sûre. Ce n'est qu'en cas d'échec, le plus souvent dû :

- à une anxiété maternelle importante entrainant un mauvais relâchement musculaire (cette anxiété peut être calmée par l'injection intra-veineuse de 10 mg de diazépam sous surveillance d'une anesthésiste).

- à l'impossibilité de refouler la présentation au dessus du détroit supérieur même par toucher vaginal,

qu'on se résout à :

- la ponction dans le sillon du cou. Elle est moins favorable à l'écoulement du liquide amniotique et expose davantage à une lésion foetale.

- Nous avons abandonné la ponction péri-ombilicale telle qu'elle avait été préconisée par les premiers auteurs (MAYER).

C) Réalisation

La femme, vessie vide, est placée :

- en décubitus dorsal,
- en position de Trendelenbourg.

Les conditions habituelles d'asepsie sont observées :

- mains gantées,
- matériel stérilisé,
- désinfection de la peau à l'alcool.

L'anesthésie locale est parfaitement inutile car la ponction est presque indolore si on l'exécute rapidement.

L'aiguille utilisée est une aiguille à ponction lombaire de 8/10 mm de diamètre, longue de 8-10 cms.

b) Lieu de ponction

Nous préférons cette ponction au ras de la symphyse pubienne dans des conditions qui seront précisées au paragraphe suivant. C'est la technique la plus sûre. Ce n'est qu'en cas d'échec, le plus [illegible] :

- à une anxiété [illegible] importante entraînant un refus de relâchement musculaire (cette anxiété peut être calmée par l'injection intra-veineuse de [illegible] mg de diazépam sous surveillance d'une anesthésiste).

- à l'impossibilité de refouler la présentation au dessus du détroit supérieur même par toucher vaginal,

qu'on se résout à :

- la ponction dans le sillon du cou. Elle est moins favorable à l'écoulement du liquide amniotique et expose davantage à une lésion foetale.

- Nous avons abandonné la ponction péri-ombilicale telle qu'elle avait été préconisée par les premiers auteurs (MAYER).

c) Réalisation

La femme, vessie vide, est placée :

- en décubitus dorsal,
- en position de Trendelenburg.

Les conditions habituelles d'asepsie sont observées :

- mains gantées,
- matériel stérilisé,
- désinfection de la peau à l'alcool.

L'anesthésie locale est parfaitement inutile car la ponction est presque indolore si on l'exécute rapidement.

L'aiguille utilisée est une aiguille à ponction lombaire de [illegible] mm de diamètre, longue de [illegible]-10 cms.

La présentation étant refoulée avec douceur de la main gauche, on pique franchement la paroi abdominale à 1 cm au dessus de la symphyse pubienne, sur la ligne médiane. Avec de l'habitude, on ressent bien au bout des doigts tenant l'aiguille, le passage de la paroi abdominale puis de la paroi utérine. On retire alors le trocart de l'aiguille. Dès qu'il s'écoule, le liquide amniotique est aspiré avec une seringue.

Parfois les premiers cc. sont teintés de sang; il faut alors changer de seringue, ce qui, très souvent, clarifie le liquide.

Des flocons de vernix, de méconium, engagés dans l'aiguille peuvent gêner le prélèvement. Une dépression importante crée par le piston de la seringue parvient le plus souvent à résoudre ce problème.

Avec cette technique, nous n'avons jamais observé d'accident ou incident sur les 252 amniocentèses pratiquées. Cependant, certains auteurs ont pu en décrire. Nous les passerons brièvement en revue.

d) Incidents et accidents de la ponction

- Infection ovulaire

Nous n'avons jamais rencontré cette éventualité.

- Déclenchement du travail

Le risque nous parait, de loin, la complication la plus à craindre. Nous l'avons rencontré 1 fois.

- Lésions foetales traumatiques

Nous n'en n'avons jamais rencontré. CREASMAN, dans sa revue des publications antérieures à 1968 (18), ne retrouve, sur plus de 1800 amniocentèses, que de rares accidents traumatiques :

. 2 points de piqûre visibles sur le foetus.
. 1 abcès sous-cutané.

Il semble donc qu'une lésion foetale soit exceptionnelle lorsque l'amniocentèse est pratiquée dans des conditions de sécurité.

- <u>Lésions placentaires</u>

Les accidents rencontrés ont été essentiellement décrits dans la ponction péri-ombilicale. C'est la complication la plus redoutable qui peut mettre en jeu la vie du foetus.

Un examen clinique obstétrical soigneux permet presque toujours de suspecter le diagnostic de placenta praevia et de demander une confirmation diagnostique par une localisation isotopique ou echographique par ultra-sons. Nous n'avons jamais rencontré de lésion placentaire.

Une recherche d'hématies foetales dans le culot de centrifugation du liquide amniotique a toujours été effectuée. Elle a été à chaque fois négative.

Le reproche fait à l'amniocentèse d'aggraver l'immunisation foeto-maternelle par transfusion d'hématies foetales peut donc être mis en doute. WOO-WANG et coll. constatent, lors de 74 amniocentèses, qu'il ne se produit pas de transfusion foeto-maternelle lorsque la ponction a été facile (59).

- <u>Lésions maternelles</u>

Egalement très rares.

Dans la majorité des cas la ponction n'est pas douloureuse. La formation d'hématomes utérins sous-séreux a cependant été signalée (52). Une compression locale systématique, pendant 3 à 4 minutes, du point de ponction permet de les éviter.

<u>EN CONCLUSION</u>

Les accidents de l'amniocentèse existent mais sont très rares. Ils sont exceptionnels lorsque l'on emploie la ponction sus-pubienne; notre travail le confirme.

Il semble [illegible] sauf [illegible]
l'amincissement [illegible]

[illegible]

[illegible]
dans la [illegible] [illegible] remplissent [illegible]
redoutable [illegible]

Un examen [illegible] presque toujours [illegible]
toujours de [illegible] procédé [illegible]
[illegible] tuo-
[illegible] Nous [illegible]
[illegible]

[illegible]
Papadicolaou [illegible]
été à [illegible]

[illegible] Papanicolaou [illegible]
[illegible]
[illegible]
[illegible]
[illegible]

- [illegible]

[illegible]

[illegible] leucorrhées,
[illegible]
[illegible]
[illegible]

[illegible]

[illegible] sont très
[illegible]
[illegible]

Les ponctions ont toujours été fructueuses. Nous avons été conduit quelquefois à changer de lieu de ponction.

- Après le prélèvement, les femmes sont placées au repos et sous surveillance. Nous les autorisons à rentrer chez elle après 1/2 journée d'hospitalisation et nous être assurés :
  - de la qualité des bruits du coeur foetaux,
  - de l'absence de contractions utérines,
  - de l'absence d'écoulement de liquide amniotique par voie vaginale.

Le liquide amniotique prélevé, soigneusement protégé de la lumière par du papier noir pour éviter sa dégradation, est immédiatement adressé au laboratoire de la MHNN. La proximité de ce laboratoire permet un examen dans des conditions idéales puisqu'il est effectué 2 heures au maximum après le recueil du liquide.

C) Examen du liquide : courbes spectrophotométriques

Dès réception, le liquide est :

- centrifugé à 4000 trs/mn pendant 10 minutes, ce qui permet d'éliminer vernix-méconium-hématies.
- filtré (sur filtre Laurent et sur Millipore si nécessaire).

On note ensuite :

- sa couleur,
- sa limpidité.

Sa courbe d'absorption est alors étudiée au spectrophotomètre de JEAN et CONSTANT. Le témoin est de l'eau distillée. L'échantillon de liquide amniotique à étudier est passé de l'écran 320 nm à l'écran 650 nm. Les lectures se font de 10 en 10. De 400 à 420 nm on lit de 5 en 5 divisions.

Lorsque l'on est en présence de méconium, on lit entre 400 et 410 nm de 2 en 2 divisions.

La présence d'un pigment se traduit par un pic sur la courbe d'absorption :

- le pic de bilirubine est trouvé à 450 nm,
- le pic de méconium est entre 402-408 nm,
- le pic d'hémoglobine entre 410-415 nm.

. Dosage chimique de la bilirubine

Chaque étude spectrophotométrique d'un liquide amniotique a été couplée à un dosage chimique de la bilirubine. La méthode utilisée a été celle de BRÜCKNER.

- BEVIS s'était tout d'abord adressé à des dosages chimiques. Ceux-ci lui avaient permis de constater que les concentrations de la bilirubine dans le liquide amniotique étaient assez variables et qu'elles se limitaient toujours à des chiffres assez faibles. La présence de ce pigment, quasi-nulle dans les liquides normaux (ce que nous confirmons aux paragraphes suivants), peut s'élever dans les liquides pathologiques.

- BEECHAM et coll. ont obtenu les mêmes résultats.
  Le manque de précision que comportent les dosages chimiques est dû à différentes causes d'erreurs. Elles peuvent être dues soit aux techniques utilisées soit aux trop faibles écarts existant entre les taux du liquide amniotique normal et ceux des liquides pathologiques.

. Etablissement de la courbe

Elle est établie :

1) sur papier millimétré pour repérer la catégorie du liquide (technique Mayer).

2) sur papier semi logarithmique pour calculer l'indice de LILEY.

1 - Technique MAYER

Les courbes sont tracées sur du papier quadrillé et millimétré, à représentation arithmétique et non logarithmique. Les longueurs d'onde, lues de 5 en 5 nm entre 320 nm et 650 nm sont représentées sur l'axe des abscisses.

Les densités optiques (DO) sont représentées sur l'axe des ordonnées suivant une progression arithmétique.

La courbe de base (liquide sans bilirubine), en pointillé sur les figures, est d'allure exponentielle et rejoint les deux parties extrêmes du tracé. Des accidents (pics) se détachent sur cette courbe, correspondant à des pigments divers. Il est capital de tracer le spectre entier car c'est la seule façon d'interpréter correctement la signification d'une étroite partie de la courbe située de part et d'autre de 450 nm, longueur d'onde du maximum d'absorption de la bilirubine. Selon l'importance du taux de la bilirubine amniotique, le pic à 450 nm est plus ou moins accentué.

MAYER a pu décrire 5 courbes (40).

a) type 1

Le tracé dans la zone de 450 nm se confond presque avec la ligne de base tout en gardant une discrète concavité vers le haut.

b) type 2

Le tracé s'écarte de la ligne de base et prend un trajet rectiligne.

c) type 3

Dans la zone de 450 nm, le tracé dessine un léger accident comme vers le haut.

d) type 4

L'accident de la courbe s'accentue et prend un aspect nettement convexe vers le haut.

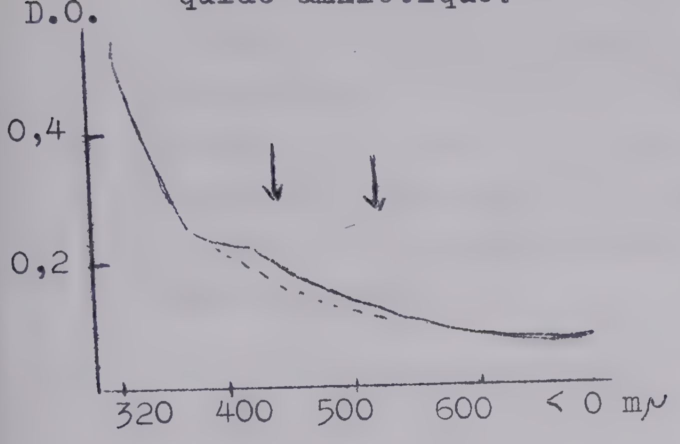
e) type 5

Il existe un pic très net et élevé dans la zone caractéristique de la bilirubine.

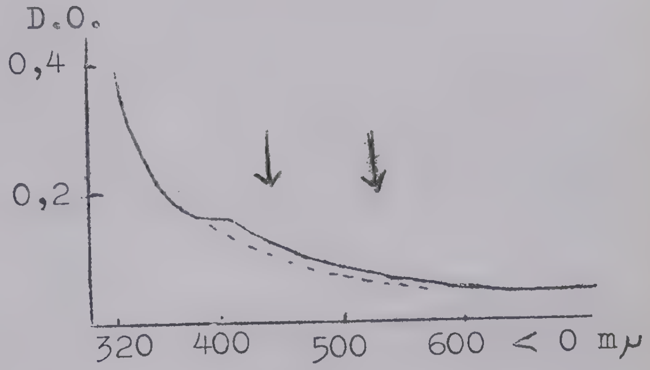
Il existe quelques inconvénients à cette classification :

- imprécision due à la difficulté de distinguer entre les courbes 1-2-3.

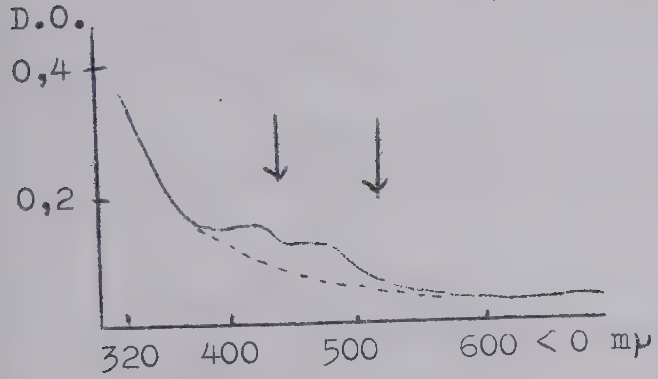
- cette classification ne tient pas suffisamment compte du terme de la grossesse auquel a été effectué l'examen du liquide amniotique.



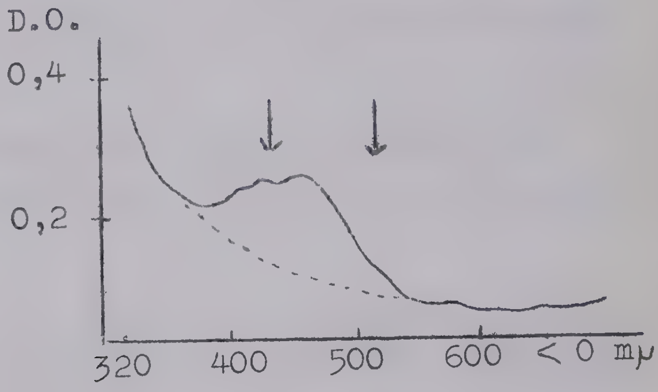
Type 1



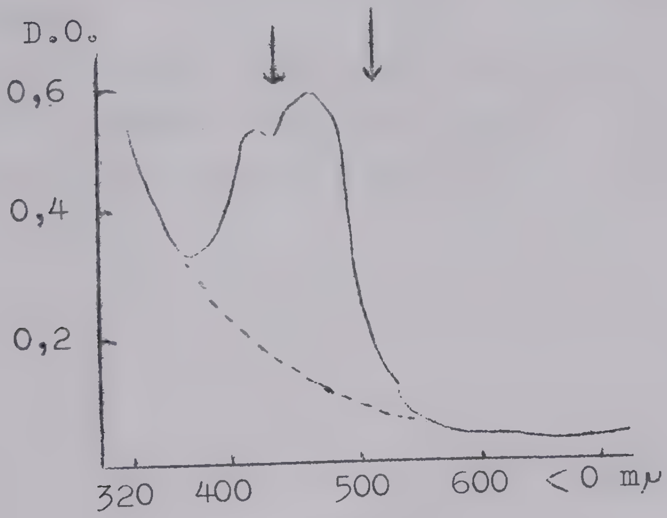
Type 2



Type 3



Type 4



Type 5

2 - Technique de LILEY

La courbe est tracée sur du papier quadrillé mais à représentation semi-logarithmique. Les longueurs d'onde sont ainsi représentées sur l'axe des abscisses de 320 nm à 650 nm. Les densités optiques sur l'axe des ordonnées mais suivant une progression logarithmique. La courbe de base, d'allure exponentielle en coordonnées arithmétiques, est rectiligne en coordonnées semi-logarithmiques.

On calcule ensuite, sur la courbe obtenue, la différence à 450 nm entre la densité optique du pic de bilirubine et de la tangente à la courbe entre les points 350 et 550 nm. On obtient ainsi une valeur = IO = indice optique qui est représentée sur le diagramme de LILEY (graphique N° 1). Cet auteur a distingué les IO obtenus en 3 zones principales de pronostic foetal différent (graphique N° 2).

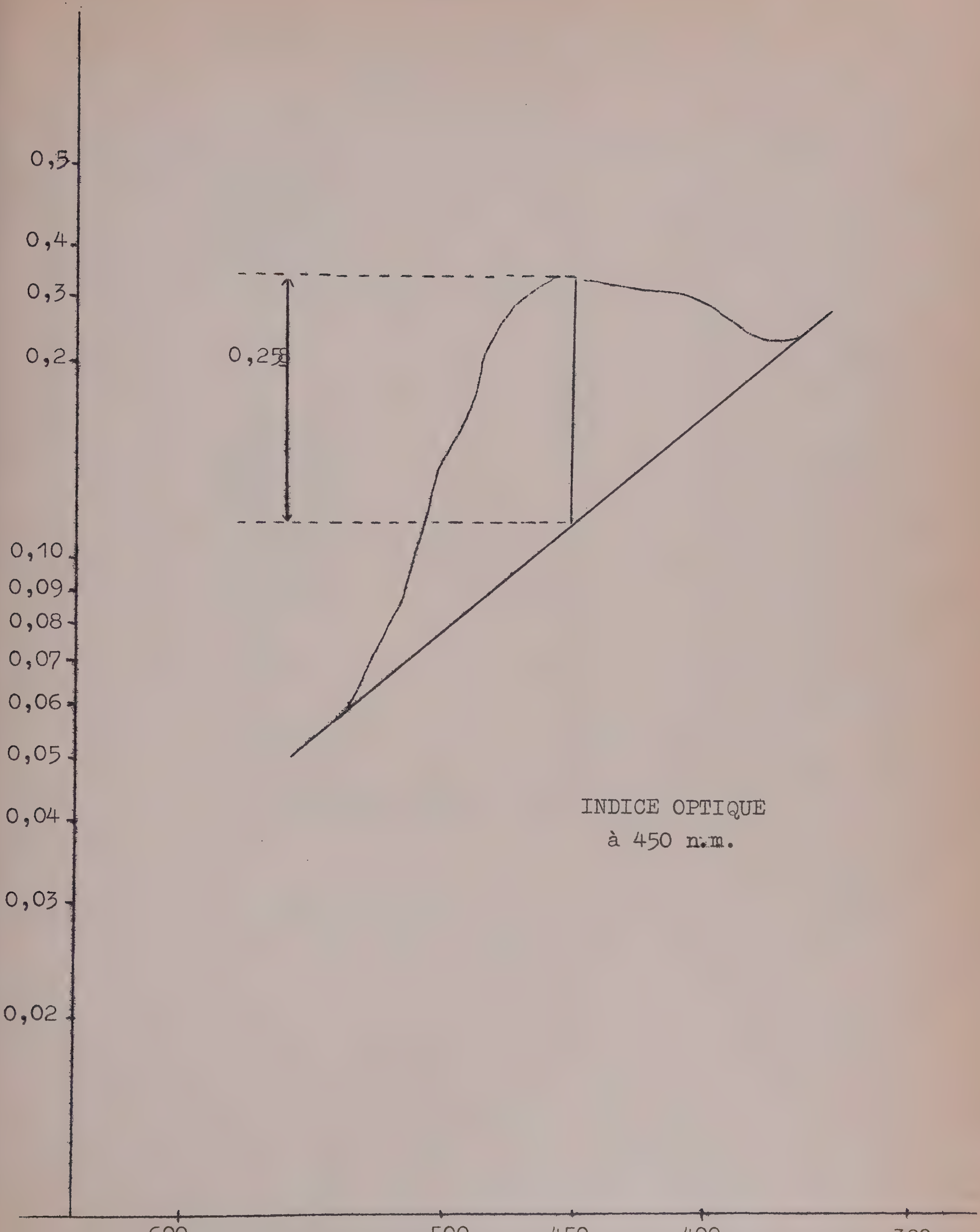
Cette méthode est la plus précise car elle permet de noter l'importance de l'hémolyse suivant l'âge de la grossesse.

Conclusion

Dans ces 2 méthodes, la présence de méconium ou d'oxyhémoglobine rend difficile l'interprétation du profil de la courbe et le calcul de l'indice optique et risque de faire commettre des erreurs par excès.

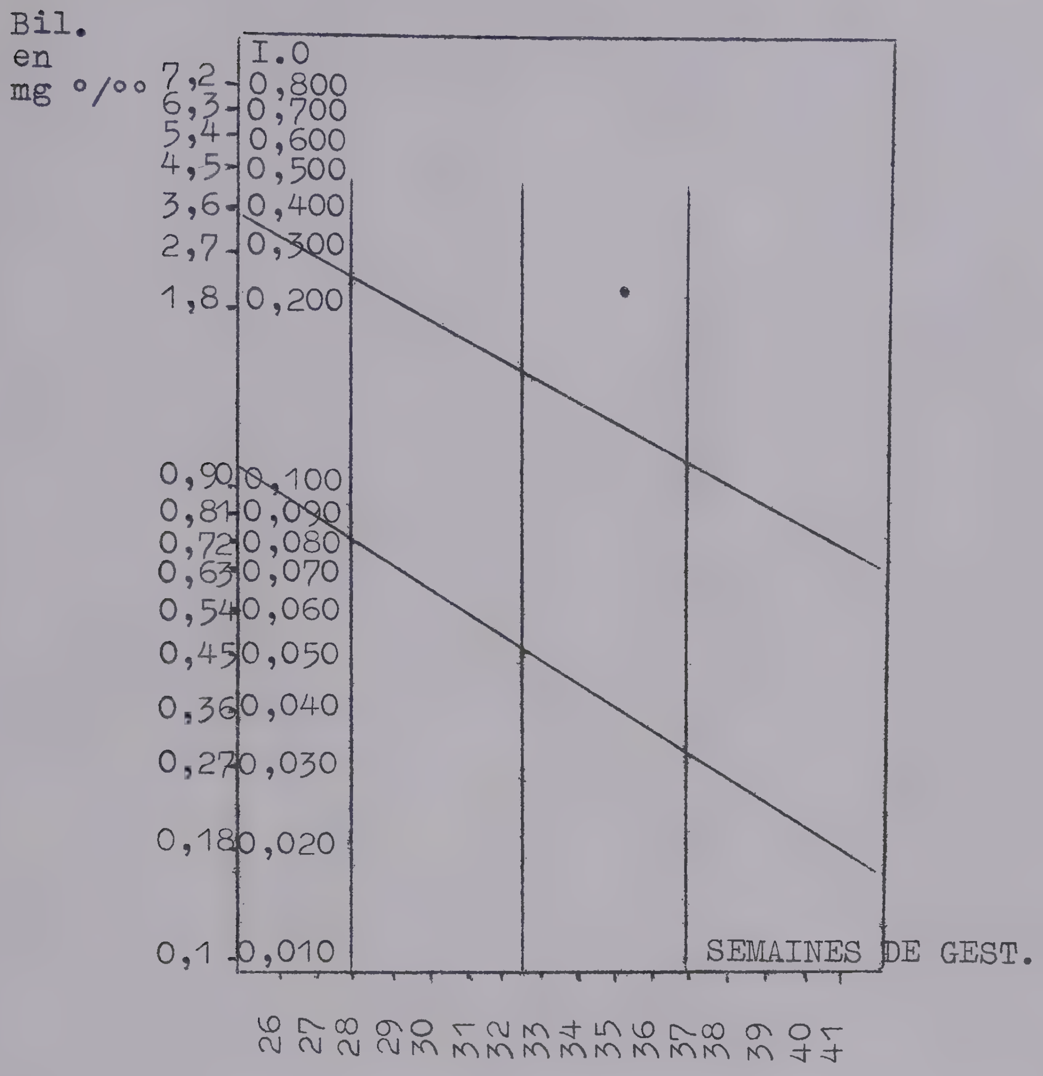
L'analyse précise des 252 courbes spectrophotométriques de ce travail a confirmé cette difficulté de lecture et montré la grande fréquence des liquides contenant du méconium.

GRAPHIQUE N° 1



GRAPHIQUE N° 2

INTERPRETATION DE L'INDICE OPTIQUE A 450 nm
(diagramme de Liley)



(Diagramme utilisé par le C.D.T.S.)

III - R E S U L T A T S

-:-:-:-:-:-:-:-

A - Etude des indices optiques des liquides amniotiques recueillis chez 107 femmes non immunisées

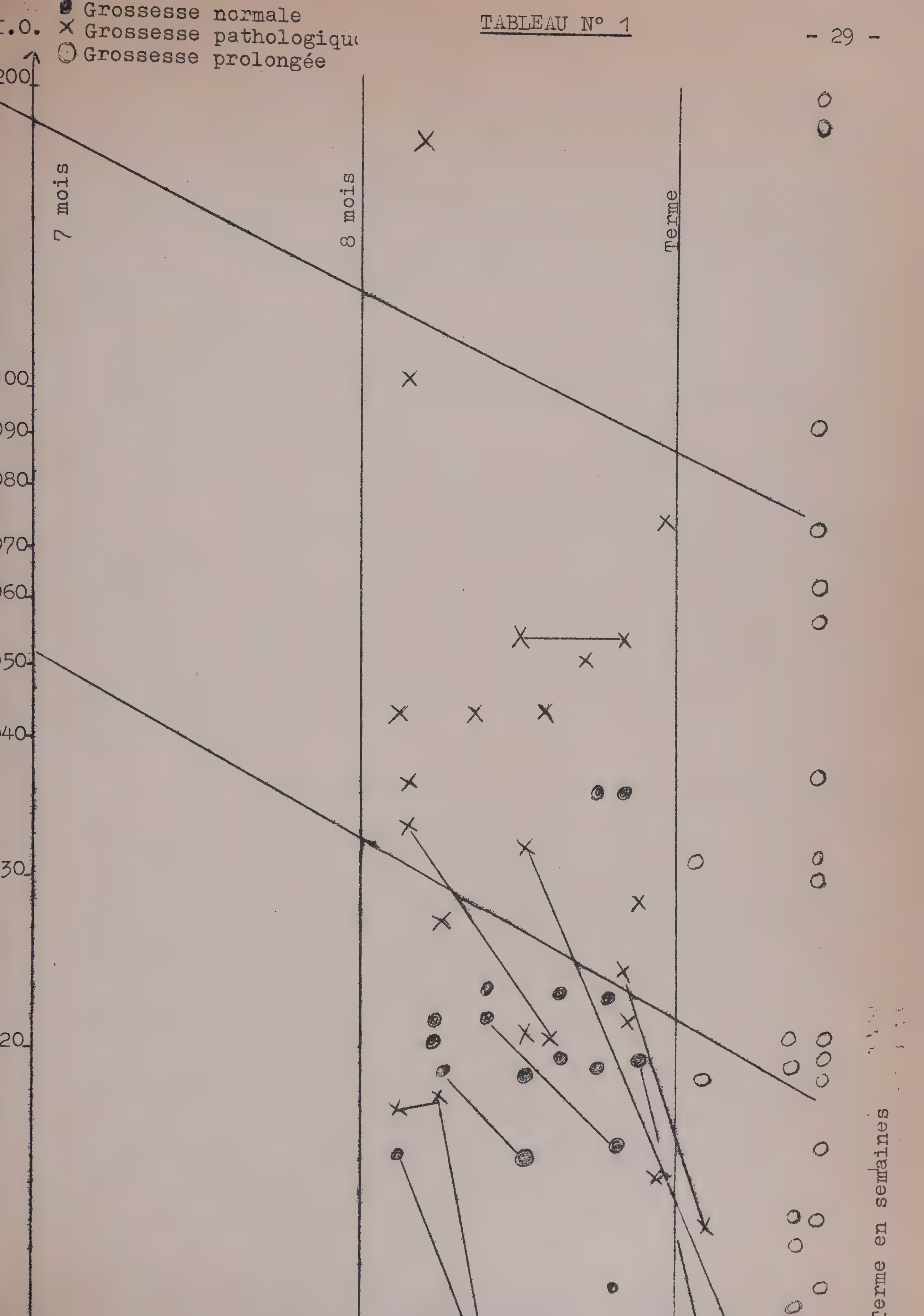
- 118 indices optiques figurent dans le tableau N° 1. Ils correspondent à de la bilirubine ou à un autre pigment.
- La rencontre fréquente de pigments différents de la bilirubine nous a incité à dresser un autre tableau où ne figurent que les indices optiques des liquides amniotiques pour lesquels le pic spectrophotométrique était isolé à 450 nm. Le tableau N° 2 rassemble 60 indices optiques.

  En effet une étude critique nous a conduit à rejeter 58 liquides, soit près de la moitié, car l'étude de leur courbe d'absorption montrait l'existence d'un autre pigment que la bilirubine : méconium - oxyhémoglobine ... Le pic d'absorption se situait, pour la majorité d'entre eux, dans la bande d'absorption du méconium.

  Ce résultat ne saurait nous surprendre car 28 femmes avaient une grossesse pathologique qui avait justifié le prélèvement. En voici le détail :

- Diabète	:	3
- Toxémie gravidique	:	4
- Incompatibilité ABO	:	2
- Excès de liquide	:	3
- Grossesse prolongée	:	15
- Rupture prématurée des membranes	:	1

TABLEAU N° 1


Grossesse normale
Grossesse pathologiqu
Grossesse prolongée
200
100
090
080
070
060
050
040
30
20
7 mois
8 mois
Terme
erme en semaines

Le tableau N° 2 concerne donc les indices optiques montrant la présence du seul pigment dont le pic était à 450 nm : la bilirubine.

La lecture de ce tableau confirme bien la chute et même la disparition de la bilirubine dans le liquide amniotique après le 8ème mois (36° s.), comme l'avaient déjà signalé BARTSCH et MANDELBAUM.

En effet :

- 48 liquides ne contiennent pas de bilirubine ou seulement des traces indosables. Dans ces 48 liquides, l'indice optique se situe au dessous de 0,010.
- 12 indices optiques sont supérieurs à 0,010 :

- 3 correspondent à une incompatibilité dans le système ABO et les enfants ont fait un ictère néo-natal précoce. 2 autres liquides d'incompatibilité ABO, non retenus car contenant du méconium, avaient des indices optiques supérieurs à 0,010. Il semblerait donc, à la faveur de ces 5 observations, que la bilirubinamnie soit anormalement élevée après la 36ème semaine, dans les incompatibilités ABO. Nous n'avons pu le vérifier sur un plus grand nombre de cas.

- 8 indices optiques sont situés entre 0,010 et 0,020.

- 1 indice optique est situé près de 0,030. Il correspond à une femme qui avait une toxémie gravidique.

Cette dispersion est analogue à celle retrouvée dans les graphiques de BARTSCH et MANDELBAUM. Ainsi, après la 36ème semaine, la majorité des points se situe à ou au-dessous de 0,010 et tout indice optique à 450 nm qui s'écarte de ce chiffre doit faire rechercher une pathologie.

B - La disparition de la bilirubine : test de maturité foetale

A la lumière de ces résultats, nous avons donc voulu vérifier la valeur diagnostique de cette disparition normale de la

[illegible] leurs optiques [illegible] dont la présence [illegible] pas [illegible] : [illegible]

[illegible] la chute du même [illegible] liquide [illegible] optique après [illegible] (36° [illegible]), comme [illegible]

[illegible] effet :

— a) Il [illegible] ne correspond pas de [illegible] [illegible] [illegible], l'indice [illegible] optique [illegible] au-dessous de 0,020.

— 2 [illegible] optiques sont égales ou [illegible] à 0,020 :

— [illegible] correspondant [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible], l'indice [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] 0,010. Il [illegible] [illegible] [illegible] observations, que la [illegible] [illegible] après la même semaine. Dans les [illegible] [illegible] [illegible] de vérifier [illegible] plus [illegible] les cas.

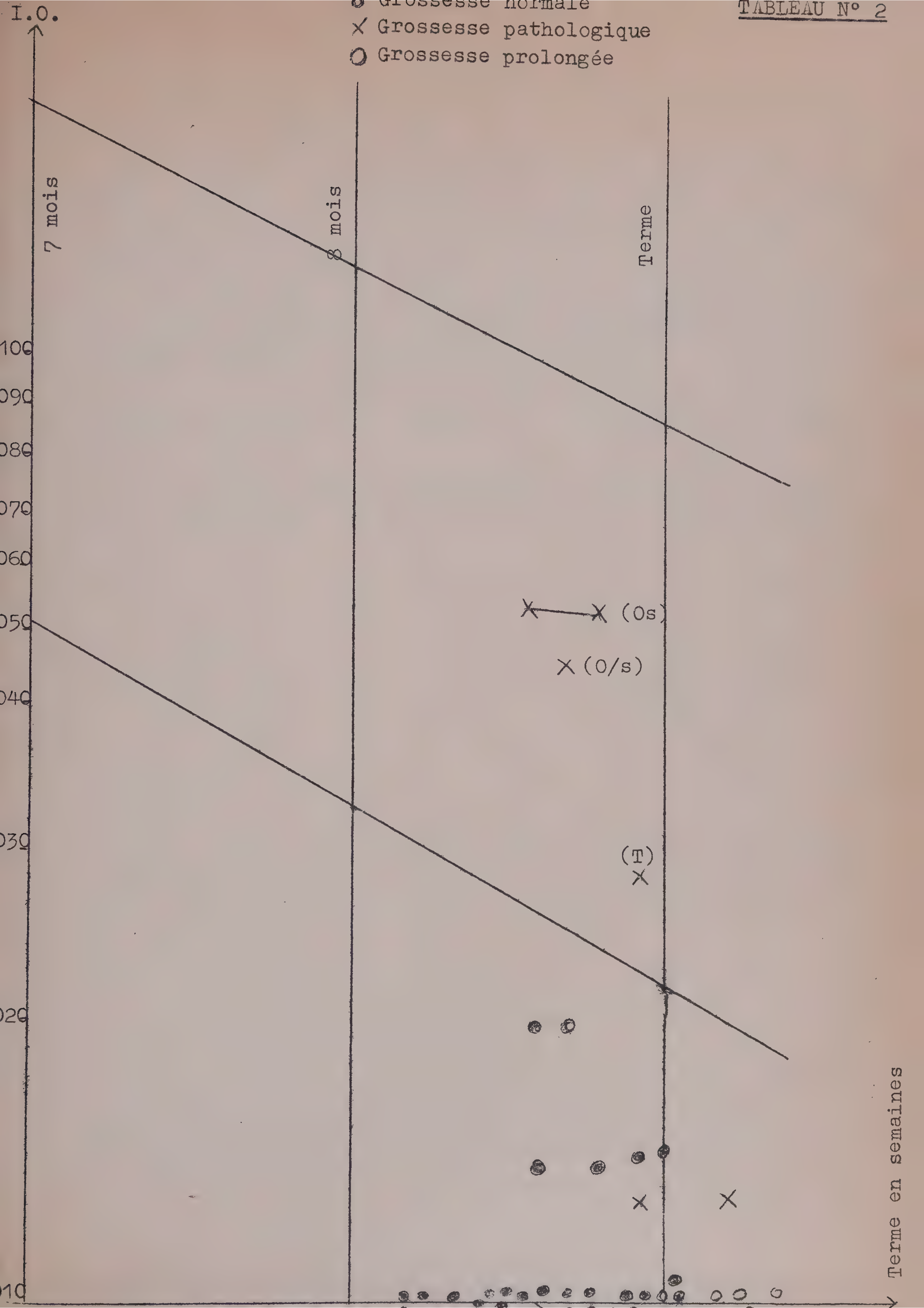
— [illegible] optiques sont situés entre 0,010 et 0,020.

— [illegible] [illegible] 0,030. Il correspond [illegible] [illegible] [illegible].

[illegible] dans les [illegible] [illegible]. [illegible] après la 3ème semaine, la majorité des [illegible] au-dessous de 0,010 et tout indice optique à 0,020 [illegible] [illegible] pathologique.

[illegible] - La disparition de la [illegible] : [illegible]

[illegible] la lumière de nos résultats, nous avons [illegible] la valeur diagnostique de [illegible] normal[illegible]


I.O.
Grossesse normale
Grossesse pathologique
Grossesse prolongée
7 mois
8 mois
Terme
100
090
080
070
060
050
040
030
020
010
(Os)
(O/s)
(T)
Terme en semaines

bilirubine amniotique comme test de maturité foetale ainsi que le propose MANDELBAUM (39).

Les 60 liquides étudiés ont tous été prélevés après la 36ème semaine et le délai séparant l'amniocentèse, ou la dernière amniocentèse lorsqu'elles ont été itératives, de l'accouchement, a été en moyenne de 7,1 jours.

Les 60 liquides ont été recueillis chez 57 femmes. Elles ont toutes accouché d'enfants de plus de 2500 g. possédant les critères cliniques et pondéraux de maturité.

. Seul un enfant né au terme théorique dépassé de 10 jours, pesait 2460 g.

. Dans 4 autres cas existait une discordance relative entre le terme présumé de la grossesse et le poids de l'enfant à la naissance.

	Terme	Poids
Cas N° 3	40 s	2740 g
Cas N° 62	41 s	2900 g
Cas N° 78	40 s	2620 g
Cas N° 101	AT + 12	2880 g

Conclusions

Lorsque l'indice optique était inférieur à 0,010, les enfants étaient réellement mûrs. Lorsque la bilirubine a disparu du liquide amniotique on peut affirmer que le terme de la grossesse est supérieur à 36 semaines.

Cet examen, au même titre que :

- la recherche des cellules oranges,
- le rapport $\frac{\text{Lécithine}}{\text{Sphingomyéline}}$
- le dosage de la créatinine dans le liquide amniotique,

mérite d'être retenu comme test de maturité foetale dans les grossesses des femmes non immunisées au facteur Rhésus.

- Nous avons été frappés, dans notre travail, par la grande fréquence - presque 50 % des liquides recueillis - des liquides méconiaux ne traduisent pas toujours une souffrance foetale. On peut se demander si ce n'est pas là un signe indirect de maturité foetale.

C) Les indices optiques des liquides prélevés après le 8ème mois chez les femmes immunisées au facteur Rhésus

- Etude

Nous avons surveillé, après la 36ème semaine, 89 femmes immunisées et nous avons pratiqué chez elles 134 amniocentèses.

La présence de méconium ou d'un autre pigment rendait impossible l'interprétation de 60 liquides recueillis chez 37 femmes. Nous retrouvons là le même fait que nous avions noté avec les liquides recueillis chez les femmes non immunisées : la grande fréquence des liquides méconiaux passé la 36ème semaine.

En revanche, 74 liquides recueillis chez 52 femmes ne contenaient aucun autre pigment que la bilirubine et ainsi, on a pu situer le pic d'absorption à 450 nm (Tableau N° 3).

La réalité de l'atteinte de l'enfant a été confirmée à la naissance par le test de Coombs direct et sa gravité jugée sur le taux de l'hémoglobine dans le sang du cordon.

Les nouveaux-nés ont été classés en 4 catégories :

1) Atteinte très sévère

L'hémoglobine est inférieure à 10 g. pour 100 ml : 2 cas.

2) Atteinte sévère

L'hémoglobine est comprise entre 10 et 12 g/100 ml : 8 cas.

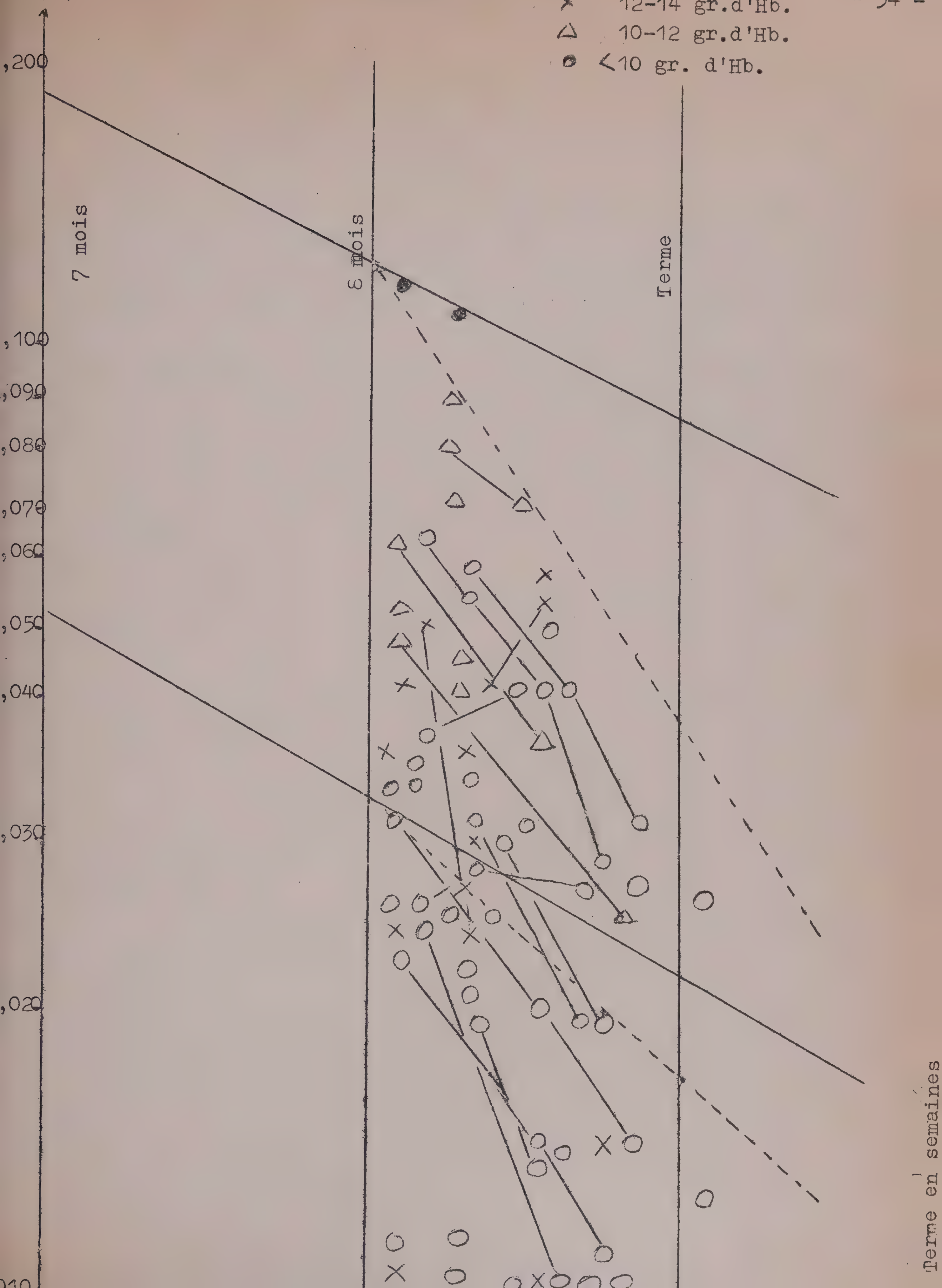
3) Atteinte moyenne

L'hémoglobine est comprise entre 12 et 14 g/100 ml :11 cas.

4) Atteinte légère et enfants Rh négatif

L'hémoglobine est supérieure à 14 g pour 100 ml : 27 cas. 4 enfants, nés de mère immunisée, étaient Rh négatif.

TABLEAU N° 3


I.O.
× 12-14 gr.d'Hb.
△ 10-12 gr.d'Hb.
● <10 gr. d'Hb.
,200
,100
,090
,080
,070
,060
,050
,040
,030
,020
7 mois
8 mois
Terme
Terme en semaines

Cette répartition nous a conduit à compléter, après la 36ème semaine, le diagramme de LILEY en calculant, comme il l'avait fait, de semaine en semaine, la moyenne des indices optiques correspondant à des atteintes semblables.

Le tableau N° 4 donne à chaque semaine les moyennes des indices optiques correspondant aux quatre classes d'enfants dont les atteintes sont comparables. L'encadrement de ces moyennes fait proposer une modification des pentes du diagramme de Liley après la 36ème semaine, comme l'illustre la figure N° 1.

. Signification pronostique et déductions thérapeutiques

L'accord est unanime sur l'interruption de la grossesse dans les formes très sévères et sévères de la maladie hémolytique après la 36ème semaine. Mais rien n'est plus variable et non précisé que la surveillance et le traitement des formes moyennes ou légères.

Les variations proviennent de la différence d'opinion sur la valeur de l'examen du liquide amniotique le dernier mois de la grossesse.

- Certains estiment qu'il est inutile, après la 36ème semaine, de pratiquer une amniocentèse car son interprétation "peut conduire à des résultats faussement optimistes" (42).

- à la 36ème semaine, l'opinion de LILEY est faite. Dans les formes graves, l'indice optique ne s'améliore pas et, à l'inverse, dans les formes bénignes il n'augmente qu'exceptionnellement (35).

- d'autres, au contraire, tirent argument de l'évolution de la bilirubinamie aux examens successifs dans le dernier trimestre. C'est ainsi que MAYER et coll. laissaient évoluer la grossesse à son terme dans les formes légères lorsque la bilirubine diminuait aux examens successifs. Dans les formes moyennes, ils pratiquent le plus souvent un déclenchement du travail au voisi-

[illegible] graphiques [illegible] conduit à conclure, [illegible] [illegible] diagrammes de LILLE et de Toulouse, comme il l'a [illegible] fait, [illegible] et sommairement, la marque des indices origi- naux correspondant [illegible] poids [illegible]

[illegible] applicables [illegible] ont [illegible] [illegible] [illegible] [illegible]

[illegible]

[illegible] [illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

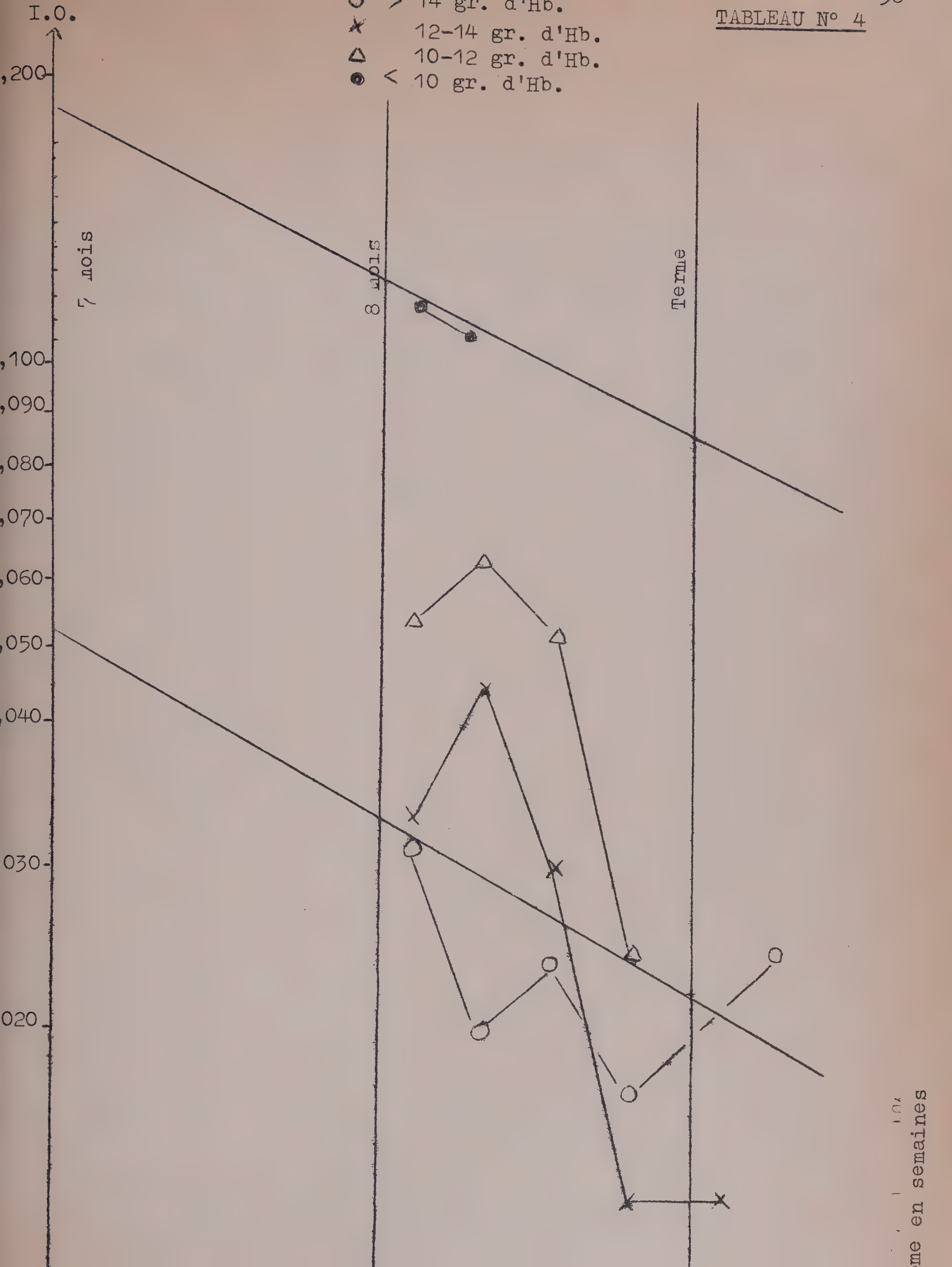
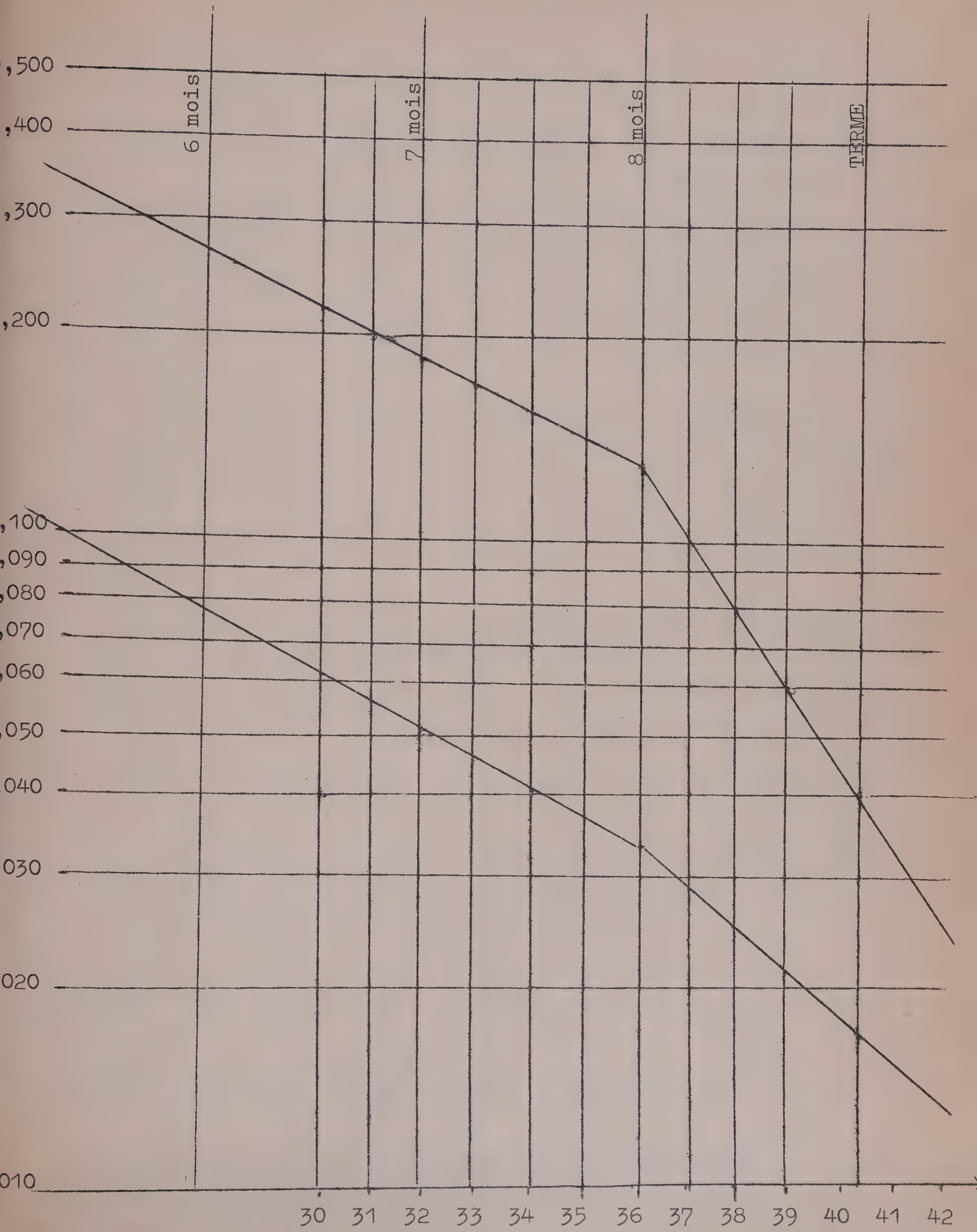

I.O.
> 14 gr. d'Hb.
12-14 gr. d'Hb.
10-12 gr. d'Hb.
< 10 gr. d'Hb.
,200
,100
,090
,080
,070
,060
,050
,040
030
020
7 mois
8 mois
Terme
me en semaines

FIGURE N° 1


,500
,400
,300
,200
,100
,090
,080
,070
,060
,050
,040
030
020
010
6 mois
7 mois
8 mois
TERME
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42

nage immédiat du terme lorsque, après 38 semaines, le liquide était de catégorie 3.

BAUDELOT et coll. (6) ont confirmé le bien fondé de cette attitude car, malgré une diminution normale dans le dernier mois de la grossesse, le taux de la bilirubine amniotique reste proportionnel à la gravité de l'atteinte foetale. Dans les autres cas, la valeur pronostique de la bilirubinémie demeure et simplifie le choix de la décision à prendre. Ainsi :

- dans les formes jugées sévères ou très sévères, dont l'indice optique se situe au-dessus de la ligne supérieure du nouveau diagramme dans le dernier mois de la grossesse, l'interruption de la gestation doit être immédiate. Son mode - voie haute ou voie basse - est alors fonction des conditions obstétricales.

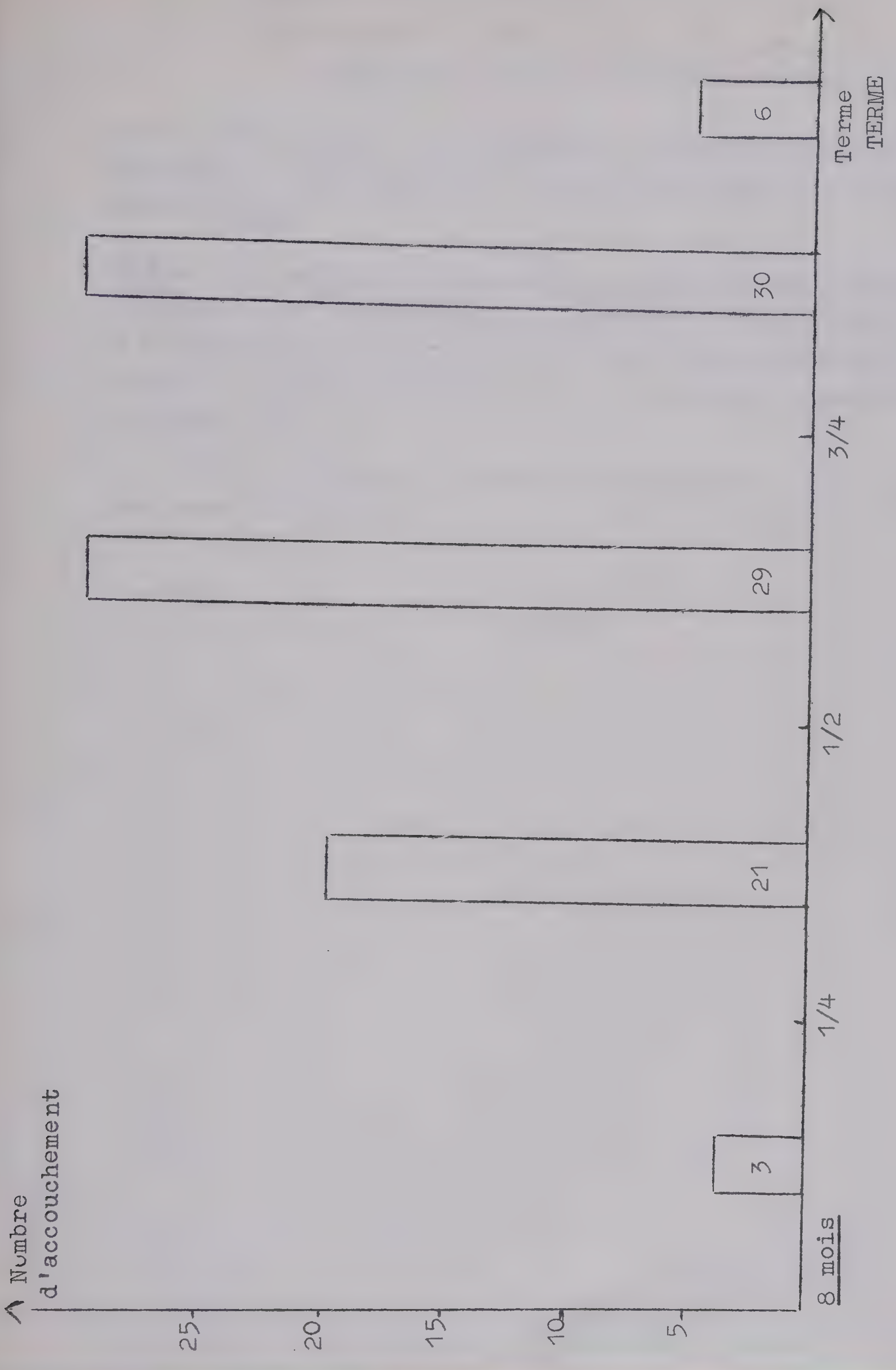
- dans les formes légères et chez les enfants que l'on estime Rh négatifs, dont l'indice optique se situe au-dessous de la ligne inférieure du diagramme, on laisse aller la grossesse à son terme sous réserve que l'indice optique reste rassurant aux ponctions successives qui sont répétées de semaine en semaine.

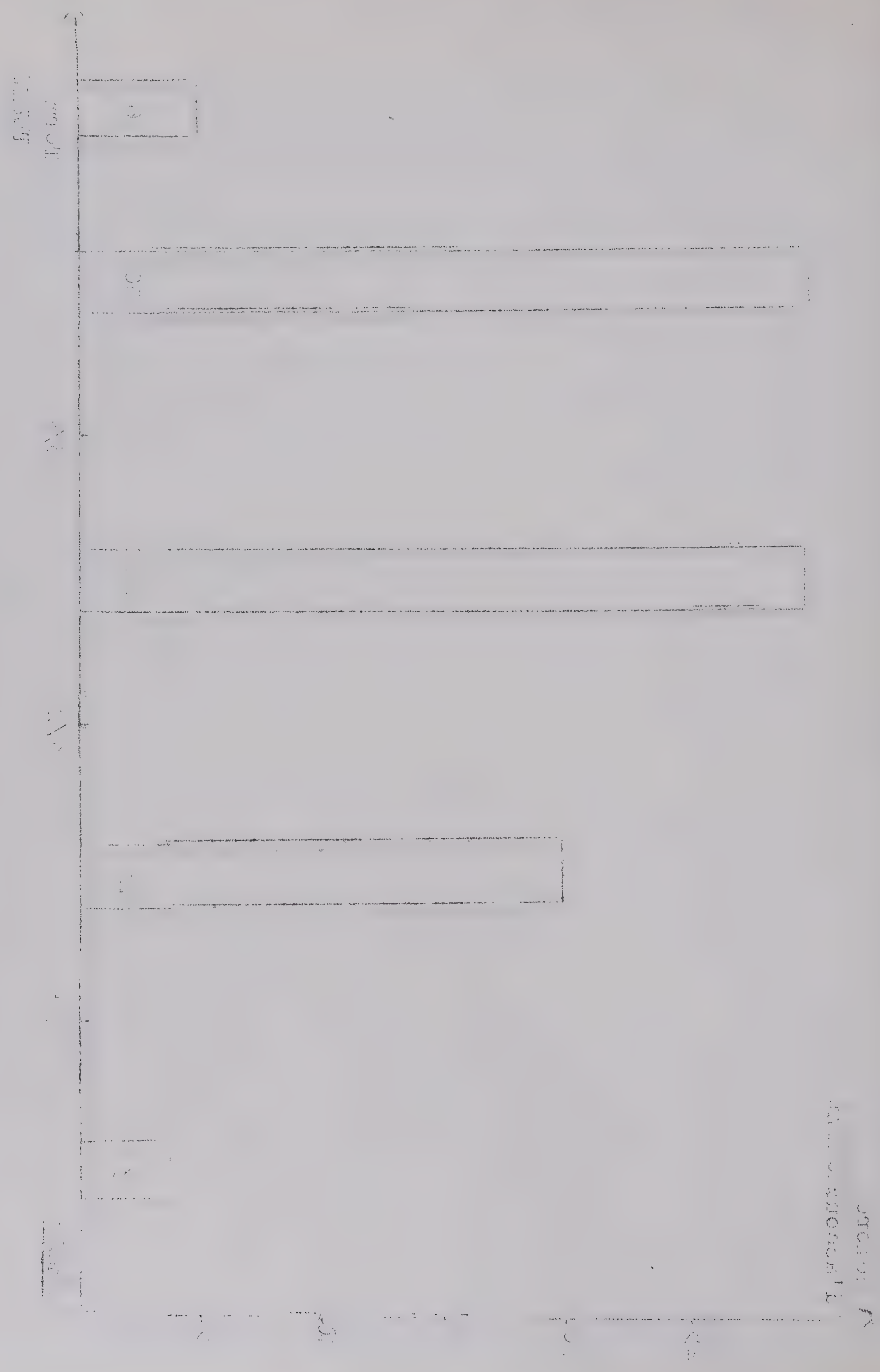
- dans les formes moyennes, les femmes sont hospitalisées et les ponctions amniotiques sont renouvelées tous les 5 jours. Le rétrécissement de la zone moyenne à mesure que l'on s'approche du terme facilite la décision thérapeutique; l'indice optique rejoint souvent une des zones voisines et l'on peut alors interrompre la grossesse ou la laisser aller à son terme.

C'est l'attitude qui a été adoptée dans ce travail. Sur les 89 femmes immunisées au facteur Rhésus et qui ont été surveillées durant le dernier mois de la grossesse :

- 3 ont accouché durant la 37ème semaine.
- 21 " " " 38ème "
- 29 " " " 39ème "
- 30 " " " " "
- 6 " " à terme.

Les résultats se retrouvent dans le tableau N° 5.


Nombre
d'accouchement
25
20
15
10
5
8 mois
1/4
1/2
3/4
Terme
TERME
3
21
29
30
6



- Dans 38 cas l'accouchement a été spontané.
- Dans 35 cas l'accouchement a été provoqué.
- 16 femmes ont subi une intervention césarienne.

L'état des enfants à la naissance correspondait au pronostic de la maladie hémolytique que laissait envisager la valeur de l'indice optique.

Grâce aux décisions thérapeutiques prises immédiatement à la naissance par les médecins du service de la M.H.N.N. et grâce à l'hospitalisation des enfants dans l'unité Rhésus de la Maternité de l'Hôpital Saint-Antoine, la mortalité néo-natale de ces enfants a été nulle.

Une ou plusieurs exsanguino-transfusions ont été nécessaires chez 59 enfants.

C O N C L U S I O N S

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Nous avons étudié la bilirubinamnie au cours du dernier mois de la grossesse chez les femmes normales et chez les femmes immunisées au facteur Rhésus.

Nous avons ainsi recueilli en 3 ans, 252 liquides amniotiques chez 196 femmes.

- 118 liquides ont été recueillis chez 107 femmes en l'absence de toute immunisation.
- 134 liquides ont été prélevés chez 89 femmes immunisées au facteur Rhésus.

Tous ces liquides ont été obtenus par amniocentèse transabdominale sans aucun accident maternel ou foetal.

Les pigments du liquide amniotique ont été étudiés en spectrophotométrie.

I) Les liquides prélevés en l'absence de toute immunisation Rhésus ont permis de préciser les variations physiologiques de la bilirubinamnie au cours du dernier mois de la grossesse. Les taux de bilirubine chez les femmes immunisées au facteur Rhésus ont été étudiés par référence à ces taux physiologiques de bilirubine. Cependant, près de la moitié des liquides - 118 sur 252 - ont été rejetés car ils contenaient un autre pigment que la bilirubine, le pigment étant du méconium, rarement de l'hémoglobine. Ces liquides ont été recueillis aussi bien chez les femmes immunisées (60) que chez les autres (58). Ce résultat ne saurait nous surprendre car, sans compter les femmes immunisées, 28 patientes avaient une grossesse pathologique qui avait justifié l'amniocentèse. L'existence d'un autre pigment que la bilirubine rend son dosage spectrophotométrique incertain.

2) 60 liquides prélevés en dehors de toute immunisation ne contiennent pas de bilirubine ou en contiennent des quantités minimes

Ils confirment bien l'extinction de la bilirubine dans le liquide amniotique après la 36ème semaine de la grossesse.

- 48 indices optiques sont égaux ou au-dessous de 0,010,
- 12 indices optiques sont supérieurs à 0,010,
  - 3 correspondent à des incompatibilités AB O. Les nouveau-nés ont développé un ictère précoce,
  - 8 sont situés entre 0,010 - 0,020,
  - 1 est supérieur à 0,030.

Les liquides prélevés chez 57 femmes dans les jours qui ont précédé l'accouchement correspondent tous sauf un à des enfants pesant 2.500 g ou plus et qui ont tous les critères cliniques de maturité.

3) La signification pronostique de la bilirubinamnie chez les femmes immunisées doit être interprétée en fonction de la diminution physiologique de la bilirubine amniotique au cours du dernier mois de la grossesse.
Elle a conduit, après la 36ème semaine, à infléchir les pentes du diagramme de Liley.

. Les décisions dans les formes graves et les formes légères n'ont pas été modifiées. Dans les formes graves, il faut faire accoucher la femme prématurément, dans les formes légères elles peuvent accoucher à terme. C'est ainsi que 4 enfants Rhésus négatif nés de mères immunisées sont nés après un accouchement spontané à terme ou au voisinage du terme.

. Ce sont les formes moyennes, éventualité fréquente puisque rencontrées dans presque la moitié des cas, qui en ont tiré le meilleur bénéfice.

L'interruption de la grossesse est ici justifiée qu'il s'agisse d'un déclenchement du travail ou d'une opération césarienne. Les enfants nés dans ces conditions avaient tous une maladie hémolytique. Aucun n'était Rhésus négatif. La mortalité périnatale a été nulle.

VU, le Président de Thèse,

M. le Professeur MERGER

VU, le Doyen,

VU et permis d'Imprimer

Le Recteur,

M. MALLET

B I B L I O G R A P H I E

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

1 - ABRAMOVICH -
The volume of amniotic fluid in early pregnancy.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth, Juillet 1968, 75, 728-731.

2 - ARIAS I.M. -
A defect in microsomal function in non hemolytic acholenic jaundice.
J. Histochem. Cytochem. 1959, 7 : 250.

3 - ARIAS I.M., JOHNSON L. and WOLFSON S. -
Biliary excretion of injected conjugated and unconjugated bilirubin by normal and Gunn rats.
Amer. J. Physiol., 1961, 200 : 1091.

4 - ARIAS I.M. and LONDON I.M. -
Bilirubin glucuronide formation in vitro : demonstration of a defect in Gilbert's disease.
Science, 1957, 126 : 563-567.

5 - BARTSCH F.K., E.F.S. PERSSON, CARLSTROM E. und ERIKSSON B. -
Der Pigmentindex des Fruchtwassers während der normalen Schwangerschaft.
Gynaecologia 1969, 168 : 171-179.

6 - BAUDELOT J., SANTARELLI J., DUVAL Cl. -
La bilirubine du liquide amniotique le dernier mois de la grossesse. Sa valeur pronostique chez les femmes immunisées au facteur Rhésus (Sous presse).

7 - BERNSTEIN L.H., BEN EZZER J., GARTNER L. and ARIAS I.M. -
Hepatic intracellular distribution of tritium labeled unconjugated and conjugated bilirubin in normal and Gunn rats.
J. Clin. Invest. 1966, 45, 1194-1198.

8 - BERNSTEIN R.B., NOVY N.J., PINSELKI G.J., LESTER R. and JACKSON B.T. -
Bilirubin metabolism in the fetus.
J. Clin. Invest. 1969, 48, 1678.

9 - BEVIS D.C.A. -
The antenatal prediction of haemolytic disease of the newborn.
Lancet, 1952, I, 395-398.

10 - BOSTON, HUMPHREYS, NORMAND, REYNOLDS and STRANG -
Formation of liquid in the lungs of the fetal.
Biol. Neonat. 1968, 12, 5-6, 306-315.

11 - BROWN A.K. -
Constituants of amniotic fluid : reflections of normal and abnormal fetal maturation. In: Diagnosis and Treatment of fetal disorders. Publi. S.I. direct. de K. ADAMSONS. Berlin. Springer 1968. 121-14.

12 - BROWN A.K. -
Bilirubin metabolism in the developing liver.
In Assali, N.S. ed. : Biology of Gestation, New York, Academic Press, 1968, 2, 355.

13 - BROWN A.K. -
Variations in the management of neonatal hyperbilirubinemia : impact on ourunderstanding of fetal and neonatal physiology. In Bergsma D., ed. : Bilirubin Metabolism in the Neoborn. Brith. Defects Original Articles Series, 1970, 6 : 22.

14 - BROWN A.K. and SCOGGIN W.A. -
Studies of bilirubin and water transfer across umbilical cord and fetal skin. In Proceedings of the Society for Pediatric Research, Atlantic City, New Jersey, 1971, p.264.

15 - BROWN W.R., GARDSKY G.M. and CARBONE J.V. -
Intracellular distribution of tritiadad bilirubin during hepatic uptake and excretion.
Amer. J. Physiol. 1965, 207, 1237.

[illegible] – [illegible] A.J., [illegible] J., [illegible] R.J., LESTER R. [illegible]
[illegible]
Bilirubin metabolism [illegible] the foetus.
J. Clin. Invest. [illegible], 55, 1975.

[illegible] – BEVIS [illegible] –
[illegible] natal prediction of haemolytic disease of the newborn.
Lancet, 1952, [illegible].

[illegible] – BOLTON, [illegible], REYNOLDS and STRANG –
Formation of liquid in the lungs of the foetus.
Biol. Neonat. [illegible], 306-315.

[illegible] – BROWN A.K. –
Erythroblastosis fetalis [illegible] and [illegible] and treatment of fetal disorders [illegible]
[illegible]

12 – BROWN A.K. –
Bilirubin metabolism in the developing liver.
In Assali, N.S. ed. : Biology of Gestation, New York, Academic Press, [illegible], 2, [illegible].

13 – BROWN A.K. –
Variations in the management of [illegible] hyperbilirubinemia : impact on our understanding of fetal and neonatal physiology. In Bergsma, D., ed. : Bilirubin metabolism in the newborn. Birth Defects Original Article Series, 1970, 6 : [illegible].

14 – BROWN A.K. and [illegible] –
Studies of bilirubin [illegible] transfer across umbilical [illegible]. In Proceedings of the Society for Pediatric Research, Atlantic City, New Jersey, 1971, p.[illegible].

15 – BROWN A.R., GARTNER [illegible] and [illegible] –
Intracellular distribution of unbound bilirubin during hepatic uptake and excretion.
Amer. J. Physiol. [illegible], 207, [illegible].

16 - CASSADY G. and CAILLITEN M.D. -
The amniotic fluid in anencephaly.
Amer. J. Obstet. Gynec., 1967, 97, 395-399.

17 - CLARENCE and MAC LAIN -
Amniography : a versatile diagnostic procedure in obstetrics.
Obstet. Gynec., 1964, 23, 45-50.

18 - CREASMAN W.T., LAWRENCE R., THIEDE H.A. -
Fetal complication of amniocentesis.
J. Amer. Med. Ass., 1968, 204, 949-952.

19 - ELLIOT P.M., JAMAN W.H.W. -
Volume of liquor amini in normal and abnormal pregnancy.
Lancet, 1961, 2, 835-840.

20 - FUCHS F. -
Volume of amniotic fluid at various stages of pregnancy.
Clin. Obstet. Gynec., 1966, 9, 449-460.

21 - GALASK and SNYDER -
Bacterial inhibition by amniotic fluid.
Amer. Jour. Obstet. Gynec., 1968, 102, 7, 949-955.

22 - GARTNER L.M. and ARIAS I.M. -
Formation, transport, metabolism and excretion of bilirubin.
New Eng. J. Med., 1969, 280, 1339-1349.

23 - GOODLIN R. and LLOYD D. -
Fetal tracheal excretion of bilirubin.
Biologia Neonatorum, 1968, 12, 1-12.

24 - GRODSKY G.M. and CARBONE J.V. -
The synthesis of bilirubin glucuronide by tissue homogenates.
J. Biol. Chem. 1957, 225, 449.

25 - HANON F., BAZIN C. -
Recherches expérimentales sur la destinée de certaines substances injectées dans le liquide amniotique.
Gynec. et Obstet., 1966, 65, 329-350.

26 - HANON F., COQUIN-CARNOT M., PIGNARD P. -
Le liquide amniotique (système amniotique).
Etude chimique, biologique et physico-chimique.
Paris, Masson, 1955, 175 p.

27 - HERON H.S. -
The electrophoresis of proteins of amniotic fluid.
Journ. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth. 1966, 73, 91-98.

28 - HOYES -
Fine structure of human amniotic epithelium in early pregnancy.
The Journ. Obstet. and Gynec. of the Brit. Comm. 1968, 75, 949-962.

29 - JACKSON B.T. and EGDAHL R.E. -
The performance of complex fetal operations in utero without amniotic fluid loss or other disturbances of fetal-maternel relationships.
Surgery, 1960, 48, 564.

30 - JEFFCOATE and SCOTT -
Polyhydramnios and oligohydramnios.
Canad. Med. Asso. J., 1959, 80, 77-86.

31 - KOVACS L., FARKAS M., ZELENKA L. -
Amniocentesis and the study of amniotic fluid. In : intra-uterine dangers to the fetus, Publ. s. direct. de J. HORSKY and Z.K. STEMBERA. Amsterdam, Excepta Medica Foundation, 1967, 393-397.

32 - LESTER R. and SCHMID R. -
Intestinal absorption of bile pigments.
The enterohepatic circulation of bilirubin in the rat.
J. Clin. Invest., 1963, 42, 736.

33 - LESTER R. and SCHMID P. -
Intestinal absorption of bile pigments. II Bilirubin absorption in man.
New Eng. J. Med., 1963, 269, 178.

34 - LESTER R. and TROXLER R.F. -
Recent advances in bile pigment metabolism.
Gastroenterology, 1969, 53, 143.

35 - LILEY A.W. -
Liquor amnii analysis in the management of the pregnancy complicated by rhesus sensitization.
Amer. J. Obstet. Gynec. 1961, 82, 1359-1370.

36 - LILEY A.W. -
Errors in the assessment of hemolytic disease from amniotic fluid.
Amer. J. Obstet. Gynec. 1963, 86, 485-494.

37 - LISTER -
Ultrastructure of the human amnios, chorion and fetal skin.
Jour. Obstet. Gynaec. Brit. Comm., 1968, 75, 327-34.

38 - LILEY J.F. -
Diagnosis and treatment of the fetus with erythroblaste.
Pediat. Clin. N. Amer., 1966, 13, 1117-1126.

39 - MANDELBAUM B., LA CROIX G.C. and ROBINSON A.R. -
Determination of fetal maturity by spectrofotometric analysis of amniotic fluid.
Obstet. Gynec. N.Y. 1967, 29, 471-474.

40 - MAYER M., GUERITAT P., DUCAS P., LEWI S. -
L'examen du liquide amniotique. Elément essentiel du pronostic antenatal de l'érythroblastose foetale.
Presse. Med. 1961, 69, 2493-2495.

41 - MERGER R., LEVY J. et MELCHIOR J. -
Précis d'obstétrique. Masson et Cie, 1967.

42 - PALLIEZ R., GOUDEMAND M. et coll. -
Intérêt de la ponction amniotique dans l'iso-immunisation en facteur Rh.
Gynec. Obstet. Paris, 1967, 66, 5, 561-584.

43 - PITKIN R.M., BURCHELL R.C., REYNOLDS Ann. W. -
Renal function in the primate foetus.
Obstet. Gynec., 1967, 25, 436.

44 - PITKIN R.M., REYNOLDS A.N., BURCHELL R.C. -
Fetal contribution to amniotic fluid.
Amer. Jour. Obstet. Gynec. 1968, 100, 6, 834-83.

45 - PLENTL A.A. -
Transfer of water across the perfused umbilical cord.
Proc. Soc. Gynec. Biol. Med. 1961, 107, 622-626.

46 - PRENTL -
Formation and circulation of amniotic fluid.
Clin. Obstet. Gynec., 1966, 9, 427-435.

47 - PRITCHARD E.T. -
Deglutition by normal and anencephalic fetuses.
Obstet. Gynec., 1965, 25, 289-297.

48 - RAVINA J.H. -
L'amniocentèse transabdominale.
Presse Med., 1968, 76, 331-332.

49 - REYNOLDS A., PITKIN R.M. and HODARI A.A. -
Transfer of iodide into amniotic fluid by the normal and the nephrectomized subhuman primate fetus.
Amer. Jour. Obstet. Gynec., 1969, 104, 633-641.

50 - SCHENKER S., BASHORE R.A. and SMITH F. -
Bilirubin disposition in fetal monkies.
In BOUCHIER I.A.D. and BILLING B.H.; eds : Bilirubin Metabolism. Philadelphia, F.A. DAVIS CO., 1967, p. 199.

51 - SCHENKER S., DAWBER N.H. and SCHMID R. -
Bilirubin metabolism in the fetus.
J. Clin. Invest., 1964, 43, 32.

52 - SCHWEITZER M. -
De l'étude du liquide amniotique dans la souffrance foetale.
Thèse Nancy, 1970, 185 p.

53 - SCHMID E., AXELROD J., HAMMAKER L. and SWARM R.L. -
Congenital jaundice in rats due to a defect in glucuronide formation.
J. Clin. Invest., 1958, 37, 1123-1126.

54 - SCHMID R., HAMMAKEN L. and AXELROD J. -
The enzymic formation of bilirubin glucuronide.
Arch. Biochem. Biophys. 1957, 70, 285.

55 - SETNIKAR, AGOSTONI and TAGLIETTI -
The fetal lung, a source of amniotic fluid.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1959, 101, 842-845.

56 - WALDAM, BERLIN and Mc LAIN -
Amniography in the diagnostic of fetal death.
O. Radiology, 1965, 84, 1066-1071.

57 - WALKER W., FAIRWEATHER D.V.I. and JONES P. -
Examination of liquor amnii as a method of predicting severity of haemolytic disease of the newborn.
Brit. Med. J., 1964, 2, 141-147.

58 - WATSON C.J., CAMPBELL M. and LOWRY P.T. -
Preferential reduction of conjugated bilirubin to urobilinogen by normal fecal flore.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1958, 98, 749.

59 - WOO-WANG M.Y.F., MAC CUTCHEON E., DESFORGES Jane -
Feto-maternal hemorrhage from diagnosis transabdominal amniocentesis.
Amer. J. Obstet. Gynec., 1967, 97, 1123-1128.